

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE NANTES

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR-INGÉNIEUR

PAR

Atahollah AKHAVAN

ETUDE DE QUELQUES ASPECTS DE LA BIOLOGIE DU
MONILIA FRUCTIGENA Pers. ET DU *MONILIA LAXA*
(Ehrenb.) Sacc.

Soutenue le **Février 1972** devant la Commission d'Examen.

Monsieur G. VIENNOT-BOURGIN	<i>Président d'Honneur</i>
Mademoiselle G. DEBRAUX	<i>Présidente</i>
Mademoiselle M. ASTIE	} <i>Examineurs</i>
Monsieur P. BONDOUX	

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE NANTES

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR-INGÉNIEUR

PAR

Atahollah AKHAVAN

ÉTUDE DE QUELQUES ASPECTS DE LA BIOLOGIE DU
MONILIA FRUCTIGENA Pers. ET DU *MONILIA LAXA*
(Ehrenb.) Sacc.

Soutenue le Février 1972 devant la Commission d'Examen.

Monsieur G. VIENNOT-BOURGIN	<i>Président d'Honneur</i>
Mademoiselle G. DEBRAUX.....	<i>Présidente</i>
Mademoiselle M. ASTIE	} <i>Examineurs</i>
Monsieur P. BONDOUX	

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE NANTES

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR-INGÉNIEUR

PAR

Atahollian AKHAVAN



ÉTUDE DE QUELQUES ASPECTS DE LA BIOLOGIE DU
MONILIA FRUCTIGERA PER ET DU MONILIA LAXA
(Entom.) Sacc.

Présentée le 15 Février 1972 devant la Commission d'Examen.

Monsieur G. VERNIER-BOURGIN	Président du Jury
Monsieur C. DERRAUX	Président
Monsieur M. ASTÉ	Examinateur
Monsieur R. BONDUR	Examinateur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DES SCIENCES DE NANTES

PROFESSEURS TITULAIRES

Sciences mathématiques

MM. G. BRILLOUET
I. MOLINARO

M. J. PETRESCO

Sciences physiques

MM. P. AVIGNON
A. BOULLOUD
L. COLLET

MM. S. MINN
H. MOUTON

Sciences chimiques

MM. J. PIERI
H. QUINIOU

M. B. WOJTKOWIAK

Sciences biologiques

Mlle G. DEBRAUX

PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

Sciences mathématiques

MM. C. PAUC

M. R. RAFFIN

Sciences chimiques

M. J.-M. DUNOYER

M. Y. GRAFF

Sciences biologiques

M. R. GARRIGUES

MM. G. LE DOUARIN

Mme N. LE DOUARIN

R. SELLIER

Sciences de la terre

M. P. CAVET

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Sciences physiques

MM. J-P. BARDON
G. GOUREAUX

M. W. LASKAR

Sciences chimiques

MM. G. MARTIN
J. ROUXEL

M. M. TOURNOUX

Sciences biologiques

M. P. DUPONT

M. Y. SAUDRAY

Sciences de la terre

M. F. OTTMANN

MAITRES DE CONFERENCES

Sciences mathématiques

MM. D. BETTEN
A. FOUQUES
M. GATESOUBE

MM. H. IBISCH
D. LEBORGNE

Sciences physiques

MM. R. LE BIHAN
R. LEMAITRE

MM. P. LONCKE
L. ROSIER

Sciences chimiques

M. M. CHABANNEL

Mme M. MARTIN

Sciences biologiques

MM. L. AMOURIQ
D. LEBRUN

Mme D. NICOLAS-PRATT

Sciences de la terre

M. F. FORESTIER

M. A. NICOLAS

CHARGÉ D'ENSEIGNEMENT

Sciences mathématiques

M. PHAN-THE-LAI

[illegible]

Sciences mathématiques

Sciences physiques

Sciences chimiques

M. J-C REMY

Sciences biologiques

M. G. MATZ

Sciences mathématiques

Mme I. MORET-BAILLY

Sciences physiques

Sciences biologiques

M. J. SCHWANDER

1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030	2031	2032	2033	2034	2035	2036	2037	2038	2039	2040	2041	2042	2043	2044	2045	2046	2047	2048	2049	2050	2051	2052	2053	2054	2055	2056	2057	2058	2059	2060	2061	2062	2063	2064	2065	2066	2067	2068	2069	2070	2071	2072	2073	2074	2075	2076	2077	2078	2079	2080	2081	2082	2083	2084	2085	2086	2087	2088	2089	2090	2091	2092	2093	2094	2095	2096	2097	2098	2099	2100	2101	2102	2103	2104	2105	2106	2107	2108	2109	2110	2111	2112	2113	2114	2115	2116	2117	2118	2119	2120	2121	2122	2123	2124	2125	2126	2127	2128	2129	2130	2131	2132	2133	2134	2135	2136	2137	2138	2139	2140	2141	2142	2143	2144	2145	2146	2147	2148	2149	2150	2151	2152	2153	2154	2155	2156	2157	2158	2159	2160	2161	2162	2163	2164	2165	2166	2167	2168	2169	2170	2171	2172	2173	2174	2175	2176	2177	2178	2179	2180	2181	2182	2183	2184	2185	2186	2187	2188	2189	2190	2191	2192	2193	2194	2195	2196	2197	2198	2199	2200	2201	2202	2203	2204	2205	2206	2207	2208	2209	2210	2211	2212	2213	2214	2215	2216	2217	2218	2219	2220	2221	2222	2223	2224	2225	2226	2227	2228	2229	2230	2231	2232	2233	2234	2235	2236	2237	2238	2239	2240	2241	2242	2243	2244	2245	2246	2247	2248	2249	2250	2251	2252	2253	2254	2255	2256	2257	2258	2259	2260	2261	2262	2263	2264	2265	2266	2267	2268	2269	2270	2271	2272	2273	2274	2275	2276	2277	2278	2279	2280	2281	2282	2283	2284	2285	2286	2287	2288	2289	2290	2291	2292	2293	2294	2295	2296	2297	2298	2299	2300	2301	2302	2303	2304	2305	2306	2307	2308	2309	2310	2311	2312	2313	2314	2315	2316	2317	2318	2319	2320	2321	2322	2323	2324	2325	2326	2327	2328	2329	2330	2331	2332	2333	2334	2335	2336	2337	2338	2339	2340	2341	2342	2343	2344	2345	2346	2347	2348	2349	2350	2351	2352	2353	2354	2355	2356	2357	2358	2359	2360	2361	2362	2363	2364	2365	2366	2367	2368	2369	2370	2371	2372	2373	2374	2375	2376	2377	2378	2379	2380	2381	2382	2383	2384	2385	2386	2387	2388	2389	2390	2391	2392	2393	2394	2395	2396	2397	2398</
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	--------

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE	
CHAPITRE PREMIER.-LES MONILIOSES DES ARBRES FRUITIERS.....	5
I.-IMPORTANCE ECONOMIQUE	5
II.-SYMPTOMATOLOGIE	5
A.- <u>LES INFLORESCENCES</u>	6
B.- <u>LES FRUITS</u>	6
C.- <u>LES RAMEAUX</u>	7
III.-PROBLEMES DE PROTECTION	7
A.- <u>METHODES CULTURALES</u>	7
B.- <u>METHODES CHIMIQUES</u>	8
CHAPITRE II.-LES AGENTS PATHOGENES DES MONILIOSES	9
I.-CLASSIFICATION	9
II.-REPARTITION GEOGRAPHIQUE	10
III.-CARACTERES MORPHOLOGIQUES.....	11
A.- <u>FORME ASEXUEE</u>	11
1.- <u>Stade conidien</u>	11
2.- <u>Le sclérote</u>	12
B.- <u>FORME SEXUEE</u>	14
IV.-ÉTUDE BIOLOGIQUE	15
A.- <u>DIVERSES FORMES DE CONSERVATION</u>	15
1.- <u>Les momies</u>	15
2.- <u>Les chancres</u>	15
3.- <u>Les bourgeons</u>	15
B.- <u>DISPERSION DES SPORES</u>	16

C.- <u>MODALITES DE PENETRATION</u>	16
1.- <u>Pénétration par blessure</u>	16
2.- <u>Pénétration par voie naturelle</u>	16
D.- <u>IMPORTANCE DES FACTEURS CLIMATIQUES</u>	18
V.- <u>ETUDE PHYSIOLOGIQUE</u>	18
A.- <u>FACTEURS PHYSIQUES</u>	18
1.- <u>Influence de la lumière</u>	18
2.- <u>Influence de la température</u>	19
B.- <u>FACTEURS TROPHIQUES</u>	19
C.- <u>INFLUENCE DE SUBSTANCES ANTAGONISTES DU MONILIA</u>	20
D.- <u>SENSIBILITE DES FRUITS AU MONILIA EN FONCTION DE LEUR STADE</u> <u>PHYSIOLOGIQUE</u>	21
VI.- <u>ETUDE CYTOLOGIQUE</u>	21

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL - <u>TECHNIQUES GENERALES</u>	23
I.- <u>MATERIEL</u>	23
II.- <u>TECHNIQUES GENERALES</u>	27
A.- <u>ISOLEMENT MONOSPORE</u>	27
B.- <u>CULTURE DES COLONIES</u>	27
III.- <u>SIGNES CONVENTIONNELS</u>	28

TROISIEME PARTIE

RECHERCHES EFFECTUEES	29
CHAPITRE PREMIER.- <u>ETUDE DE QUELQUES ASPECTS DU COMPORTEMENT</u> <u>PHYSIOLOGIQUE DES ESPECES ETUDIEES</u>	29
I.- <u>INFLUENCE DES FACTEURS PHYSIQUES</u>	29
A.- <u>CONDITIONS EXPERIMENTALES</u>	29
1.- <u>Milieu</u>	29
2.- <u>Eclairement-Température</u>	29
B.- <u>RESULTATS</u>	35

II.-INFLUENCE DES FACTEURS TROPHIQUES	37
A.- <u>CONDITIONS EXPERIMENTALES</u>	37
1.- <u>Milieux</u>	37
a.- <u>Milieux organiques</u>	37
b.- <u>Milieu CZAPECK et ses dérivés</u>	37
c.- <u>Milieu "S" et ses dérivés</u>	39
1.- <u>Sources carbonées</u>	39
2.- <u>Sources azotées</u>	40
3.- <u>A.B.I.A. et tryptophane</u>	40
4.- <u>Solution d'oligo-éléments</u>	40
5.- <u>Combinaison de deux acides aminés</u>	45
2.- <u>Eclairement-Température</u>	45
B.- <u>RESULTATS</u>	45
1.- <u>Variations observées sur les milieux organiques et le milieu CZAPECK</u>	45
2.- <u>Variations observées en fonction des différents milieux synthétiques</u>	45
a.- <u>Milieux dérivés de celui de CZAPECK</u>	45
b.- <u>Milieux dérivés du milieu "S"</u>	57
1.- <u>Action de différentes sources carbonées</u>	57
2.- <u>Action des acides aminés</u>	57
3.- <u>Action comparée du dl-tryptophane et de l'A.B.I.A.</u>	69
4.- <u>Action des oligo-éléments en fonction des acides aminés</u>	69
5.- <u>Combinaison des acides aminés</u>	76
CHAPITRE II.-MORPHOGENESE DU SCLEROTE	77
I.-CONDITIONS EXPERIMENTALES	77
II.-RESULTATS	77
A.- <u>MILIEUX A BASE D'EXTRAIT DE MALT</u>	77
1.- <u>Croissance du thalle</u>	77
2.- <u>Induction du sclérote</u>	78
B.- <u>MILIEU "S" ADDITIONNE DE D-GLUCOSE , DE DL-TRYPTOPHANE ET DE GLYCINE (MILIEU N° 25)</u>	84
CHAPITRE III.- GERMINATION DU SCLEROTE-ETUDE MORPHOLOGIQUE DES FORMATIONS MYCELIENNES PARTICULIERES DU <u>MONILIA LAXA</u>	86
I.-GERMINATION DU SCLEROTE CHEZ LE <u>MONILIA FRUCTIGENA</u> ET LE <u>MONILIA LAXA</u>	86

A.- <u>CONDITIONS EXPERIMENTALES</u>	86
B.- <u>RESULTATS</u>	86
II.- <u>FORMATIONS MYCELIENNES PARTICULIERES DU <i>MONILIA LAXA</i></u>	88
 <i>CHAPITRE IV.- INFLUENCE DE MICRO-ORGANISMES SUR LA FORMATION DU</i>	
<i>SCLEROTE</i>	89
I.- <u>MATERIEL</u>	89
II.- <u>CONDITIONS EXPERIMENTALES</u>	90
A.- <u>MILIEU</u>	90
B.- <u>ECLAIREMENT-TEMPERATURE</u>	90
C.- <u>EXTRACTION DES SUBSTANCES SPECIFIQUES DU <i>BACILLUS SUBTILIS</i></u>	90
1.- <u>Extraction exogène</u>	90
2.- <u>Extraction endogène</u>	90
III.- <u>RESULTATS</u>	93
A.- <u>INFLUENCE DES DIFFERENTS MICRO-ORGANISMES</u>	93
B.- <u>CAS PARTICULIER DU <i>BACILLUS SUBTILIS</i></u>	96
 <i>CHAPITRE V.-ETUDE CYTOLOGIQUE</i>	
<i>I.-TECHNIQUES</i>	97
A.- <u>COLORATION DE HOFFMANN</u>	97
B.- <u>COLORATION A LA NIGROSINE</u>	99
II.- <u>RESULTATS</u>	99

QUATRIEME PARTIE

ANALYSE DES RESULTATS	103
I.-INFLUENCE DES FACTEURS PHYSIQUES	103
II.-INFLUENCE DES FACTEURS TROPHIQUES	104
III.-MORPHOGENESE DU SCLEROTE	104
IV.-GERMINATION DU SCLEROTE	106
V.-INFLUENCE DE MICRO-ORGANISMES SUR LA FORMATION DU SCLEROTE.....	107
VI.-ETUDE CYTOLOGIQUE	107

CINQUIEME PARTIE

CONCLUSIONS GENERALES	108
BIBLIOGRAPHIE	110

INTRODUCTION

Les nombreuses recherches effectuées sur les Monilioses des arbres fruitiers révèlent l'importance des problèmes posés . La présence du *Monilia* est parfois un facteur limitant de la production de certains fruits de la famille des Rosacées , dans les régions où les conditions climatiques sont favorables au développement de ce parasite .

Malgré l'effort considérable qui a été fait pour trouver un moyen de lutte efficace contre les Monilioses , les résultats acquis ne sont pas très satisfaisants , du fait de l'absence d'une connaissance approfondie de la biologie et du comportement physiologique des agents pathogènes ; or , les données actuelles concernant ces questions sont insuffisantes et ne permettent pas d'apporter une solution définitive aux problèmes existants .

Etant donné la fréquence des deux espèces européennes du *Monilia* en France, le *Monilia fructigena* Pers. et le *Monilia laxa*(Ehrenb.) Sacc., nous avons effectué des recherches sur ces deux parasites ; nous nous proposons d'étudier la morphogénèse de leur sclérote , certains aspects de leur comportement physiologique dans des conditions expérimentales définies , et en particulier la nature de leurs exigences nutritives . Les recherches concernant les besoins trophiques du *Monilia* sont peu nombreuses et les chercheurs se sont souvent bornés à utiliser des extraits végétaux de constitution complexe et incontrôlable ; il nous a paru indispensable de mettre au point quelques milieux synthétiques de composition connue , permettant une croissance optimale et favorisant la morphogénèse du sclérote des deux espèces .

L'étude du sclérote a été envisagée d'une part , en considérant les différents stades de la transformation du mycélium sous l'influence de divers facteurs (facteurs physiques et trophiques , micro-organismes) et , d'autre part , en suivant le processus de sa germination .

Dans le but de mettre en évidence les modifications qui , éventuellement , se produisent au niveau des noyaux du mycélium au moment de la formation du sclérote , nous avons mis au point une technique particulière de fixation et de coloration de ces noyaux , à la fois dans le mycélium et dans les conidies .

Ce travail , commencé en 1968 à la station de Pathologie végétale de l'Institut national de Recherche agronomique à Versailles , dans le Laboratoire de Monsieur P.BONDOUX , Maître de Recherches à l'I.N.R.A. , nous a été suggéré par Monsieur le Professeur G.VIENNOT-BOURGIN , Directeur du Laboratoire de Pathologie végétale à l'Institut national agronomique .

Il nous a été possible de poursuivre nos travaux en Janvier 1970 , d'abord dans le Laboratoire de Mademoiselle M.ASTIÉ , Maître de Conférences à la Faculté des Sciences d'Angers , la Station de Pathologie végétale d'Angers en cours d'installation ne pouvant pas encore nous accueillir , puis dans le Laboratoire de Monsieur P.BONDOUX , à la Station de Pathologie végétale dirigée par Monsieur M.RIDÉ , Directeur de Recherches à l'I.N.R.A..

Notre Mémoire est composé de 5 parties . Dans la *première partie*, nous définissons brièvement les Monilioses des arbres fruitiers , puis nous étudions leurs agents pathogènes . La *seconde partie* est consacrée au matériel et aux principales techniques utilisées .

Dans la *troisième partie* , nous exposons l'ensemble des recherches effectuées . La *quatrième partie* est consacrée à l'analyse des résultats .

Dans la *cinquième partie* , nous dégageons les principales conclusions auxquelles nos recherches ont permis d'aboutir .

Avant l'exposé de nos travaux , nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont aidé dans la réalisation de ce Mémoire .

Nous remercions Monsieur P.BONDOUX , Maître de Recherches à l'I.N.R.A., pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son Laboratoire et pour le bienveillant intérêt qu'il a toujours porté à notre travail ; il a guidé nos débuts dans la Recherche , nous lui exprimons notre profonde gratitude .

Nos remerciements respectueux s'adressent à Monsieur le Professeur G.VIENNOT-BOURGIN , Titulaire de la Chaire de Botanique et de Pathologie végétale à l'I.N.A.; après nous avoir proposé notre sujet de recherches , il nous a fait

bénéficier de son immense expérience . Nous sommes donc très heureux du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la Présidence d'Honneur de notre Jury d'examen et nous lui exprimons notre profonde gratitude .

Nous remercions Mademoiselle le Professeur G.DEBRAUX , Titulaire de la Chaire de Botanique générale à la Faculté des Sciences de Nantes , du grand honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider notre Jury de Thèse . Au cours de la rédaction de notre manuscrit , elle nous a ménagé de précieux conseils ; nous lui exprimons notre gratitude et notre respectueuse reconnaissance .

Nous adressons à Mademoiselle M.ASTIÉ , Maître de Conférences à la Faculté des Sciences d'Angers , l'expression de notre profonde reconnaissance . Après nous avoir accueilli dans son Laboratoire , elle nous a conseillé avec une bienveillante sollicitude et a été pour nous un critique rigoureux au cours de la rédaction de ce travail ; nous lui exprimons nos sincères remerciements

Nos sincères et respectueux remerciements s'adressent encore à Monsieur M. RIDÉ , Directeur de Recherches à l'I.N.R.A., pour ses encouragements et sa bienveillante sollicitude à notre égard .

Que Mademoiselle C.COQUEN , Docteur ès Sciences , Maître-Assistant à la Faculté des Sciences d'Angers , trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements pour le grand intérêt qu'elle a toujours manifesté pour notre travail et pour son aide si désintéressée au cours de la rédaction et de la réalisation pratique de notre manuscrit ; nous lui adressons notre amical et meilleur souvenir .

Nous tenons à remercier Monsieur F.RAPILLY , Maître de Recherches à l'I.N.R.A., pour les conseils scientifiques et techniques qu'il a bien voulu nous ménager .

Nous adressons nos remerciements . Madame R.SAMSON et à Monsieur J-M.OLIVIER , Assistants à l'I.N.R.A., avec lesquels nous avons partagé une agréable atmosphère de travail au Laboratoire ; qu'ils trouvent ici l'expression de notre amitié sincère et de notre meilleur souvenir .

Nous remercions encore Messieurs J-P.PLANQUE et B.POIRET , Aide-techniques au Laboratoire de Pathologie végétale de Monsieur le Professeur G.VIENNOT-BOURGIN , Messieurs G.LACHAUD et G.HERVÉ , Aide-techniques à la Station de Pathologie végétale d'Angers, pour l'aide qu'ils nous ont apportée .

Notre reconnaissance s'adresse également à Monsieur C.BRIAND , Chargé de Recherches à l'I.N.R.A., et à Monsieur J-M.SENET , Assistant à la Faculté de Médecine et de Pharmacie d'Angers .

Nous adressons un amical souvenir à tous nos collègues de la Station de Pathologie de l'I.N.R.A. à Angers .

Ces recherches n'auraient pu se poursuivre sans l'aide matérielle du Gouvernement français ; nous prions Monsieur le Ministre des Affaires étrangères et Monsieur le Directeur général de l'I.N.R.A. de bien vouloir trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude .

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LES MONILIOSES DES ARBRES FRUITIERS

Les Monilioses sont des maladies cryptogamiques fréquentes des arbres fruitiers à noyau et à pépins ; leur dénomination dérive du nom du genre *Monilia* donné au Champignon parasite responsable .

I.-IMPORTANCE ECONOMIQUE

En Europe , les dégâts importants subis par les arbres fruitiers à noyau sont le plus souvent dûs aux attaques du *Monilia laxa* ; dans la vallée de la Garonne , par exemple , où les facteurs climatiques sont particulièrement favorables à l'installation de ces agents pathogènes , la culture de l'Abri-cotier n'est plus possible (BONDoux , 3) ; en effet l'extension considérable des vergers dans cette région et l'absence de méthodes de lutte efficaces sont responsables du développement d'un inoculum contribuant à propager la maladie .

En 1971 , nous avons nous-même assisté à la destruction d'une grande partie de la production des vergers de Cerisiers en Maine et Loire (environ les 2/3). Il faut ajouter qu'une espèce voisine , le *Monilia fructigena*, présente une importance économique beaucoup moins grande .

II.-SYMPTOMATOLOGIE

Les attaques du *Monilia* ont lieu sur les inflorescences , les fruits et les jeunes rameaux .

A.-LES INFLORESCENCES

L'attaque des parasites se manifeste par le brunissement du stigmate et des pétales et par le flétrissement de la fleur sur laquelle on peut observer les fructifications du Champignon si les conditions atmosphériques sont favorables (l'ovaire est en général détruit) ; en ce qui concerne ces symptômes, il existe une spécificité parasitaire : le *Monilia laxa* détruit les fleurs des arbres fruitiers à noyau (Prunoïdées) tandis que le *Monilia fructigena* manifeste , d'ailleurs rarement, ce faciès maladif sur les arbres fruitiers à pépins (Pomoïdées) .

B.- LES FRUITS

La contamination des fruits est normalement assurée par un inoculum issu de l'envahissement des inflorescences , ou par les conidies disséminées par le vent et la pluie à partir soit des chancres portant des fructifications , soit des fruits momifiés (au début de l'été , infection des cerises par le *Monilia laxa* ; à la fin de l'été , infection des pêches , des pommes et des poires par le *Monilia fructigena*). Remarquons que les fruits à noyau sont parasités par les deux espèces , les fruits à pépins par le *Monilia fructigena* .

L'infection se manifeste d'abord par une tache brune , généralement arrondie ; au fur et à mesure que le Champignon se développe sur le fruit , on voit apparaître un mycélium aérien qui donne naissance à des coussinets sporifères décrits par VIENNOT-BOURGIN (58).

Les fruits très jeunes , attaqués par le *Monilia laxa* ou, moins souvent cependant par le *Monilia fructigena* , subissent un sort comparable à celui des inflorescences : ils se dessèchent rapidement en se flétrissant , se couvrent de coussinets sporifères et demeurent fixés sur l'arbre ou tombent sur le sol.

Les fruits ayant dépassé le stade de la véraison atteignent rapidement un état physiologique très favorable à l'infection . Suivant les conditions météorologiques du moment , la Moniliose provoquée par le *Monilia fructigena* revêt les deux aspects suivants .

Si le temps est doux et pluvieux , les fruits pourrissent rapidement , se couvrent de coussinets sporifères , se décomposent et tombent ; fréquemment , le pédoncule des pommes ou des poires reste fixé au rameau , porte des coussinets sporifères et peut être à l'origine d'un "chancre".

Si le temps est doux et sec , les fruits se flétrissent sur l'arbre , y restent fixés en formant des "momies" dures qui persistent tout l'hiver .

C.- LES RAMEAUX

L'attaque des rameaux se traduit par la formation d'un "chancre" qui se développe en forme d'écusson à la base d'un rameau court , porteur d'inflorescences ou de fruits détruits ; ce chancre produit d'abondantes fructifications à l'automne et au printemps suivant .

ZWYGART (70) , au cours d'une étude sur l'infection des jeunes rameaux des arbres fruitiers à noyau et à pépins par le *Monilia* , confirme le pouvoir pathogène spécifique de différentes souches qui ne peut s'exprimer qu'au cours de la période de végétation ; pour cet auteur , ce sont les composés des cellules de la plante-hôte qui sont considérés comme responsables des différents degrés de résistance chez diverses variétés .

III.- PROBLEMES DE PROTECTION

La lutte contre les Monilioses a pour but d'une part , de réduire au minimum le potentiel d'inoculum existant dans le verger et , d'autre part , d'envisager un traitement préventif afin de protéger les organes en place ; la plupart des Chercheurs qui se sont occupés de ce problème proposent deux types de méthodes de lutte.

A.-METHODES CULTURALES

Pour lutter contre la Moniliose du Prunier , RENAUD (45) préconise différentes mesures .

- 1.- Choix d'une variété peu sensible à cette maladie.
- 2.- Utilisation d'une fumure minérale équilibrée ; en effet , l'auteur signale les travaux de LEFTER (33) et WADE (59) qui ont démontré qu'un excès d'azote et un déficit en potassium favorisent la Moniliose sur le Prunier et l'Abricotier .
- 3.- Irrigation rationnelle en fonction des périodes de croissance des fruits pour éviter leur éclatement .
- 4.- Taille très aérée des arbres dans le but d'éliminer les conditions favorables à la fructification du *Monilia* sur les chancres , en diminuant l'humidité ambiante par un ensoleillement plus intense ; au cours de cette opération , il est bien évident que les sources de contamination (momies et chancres) doivent être éliminées au maximum .
- 5.- Eclaircissage des fruits (si la production est abondante) réduisant la contamination par contact et déterminant en même temps un effet bénéfique sur la production de l'année suivante .

CHAPITRE II

LES AGENTS PATHOGENES DES MONILIOSES

I.- CLASSIFICATION

Les *Monilia* constituent les formes conidiennes , asexuées du genre *Stromatinia* (*Sclerotinia*) qui appartient à la famille des Sclérotiniacées placée dans l'ordre des HELOTIALES , le groupe des Euscomycètes , la sous-classe des Ascomycètes et la classe des Eumycètes par VIENNOT-BOURGIN (56); cet auteur place cependant le genre *Monilia* dans la famille des Mucédinacées , ordre des HYPHALES et sous-classe des Adélomycètes ou *Fungi imperfecti* .

D'après WORMALD (68) , le document le plus ancien se rapportant aux Monilioses remonte à 1796 où PERSON (43) signale , sur certains fruits en voie de dégradation (*Pirus* , *Prunus domestica* L. et *Prunus persica* (L.) Sieb. et Zucc.) , l'existence d'un Champignon formant des chaînes de conidies , le *Torula fructigena* Pers. qu'il appelle plus tard (44 , 1801) *Monilia* .

Selon la classification de BOUDIER (8) , des Champignons produisant certains types de sclérote sont groupés sous le nom de *Stromatinia*, terme que HONEY (24) propose de remplacer par *Monilinia* . En 1945 , WHETZEL (61) place , dans la famille des Sclérotiniacées , le genre *Monilinia* (forme parfaite du *Monilia* qui produit des sclérotés creux , sphéroïdes et des conidies en chaîne) et le genre *Sclerotinia* . Selon VIENNOT-BOURGIN (56) , dans le genre *Sclerotinia* , on distingue :

- les *Stromatinia* ou *Sclerotinia* dont les sclérotés sont difficilement mis en évidence (leur forme conidienne correspond au genre *Monilia*) ,
- les *Eusclerotinia* à sclérotés bien différenciés (les formes conidiennes correspondent au genre *Botrytis* et *Endoconidium*) .

En 1818 , EHRENBURG (14) découvre sur l'Abricotier un Champignon , l'*Oidium laxum* Ehrenb. , qui devient le *Monilia laxa* Sacc. et Vogl..

En 1851 , BONORDEN (7) donne à un Champignon trouvé sur des fruits décomposés le nom de *Monilia cinerea* Bon. utilisé pendant un certain temps pour désigner le *Monilia* gris des prunes et des cerises . WORONIN (69) , dans

une description détaillée du *Monilia fructigena* Pers. et du *Monilia cinerea*, démontre que ces deux espèces se distinguent l'une de l'autre .

En Europe , aux environs de 1900 , on prend l'habitude d'attribuer les Monilioses aux trois espèces suivantes : *Monilia fructigena* (Pomoïdées), *Monilia cinerea* (prunes et cerises) et *Monilia laxa* (abricots). Or, WORMALD (68) , en 1954 , considère qu'il n'existe pas de différence d'ordre morphologique entre le *Monilia laxa* et le *Monilia cinerea* ; de plus , il est peu probable qu'il y ait des différences d'ordre biologique ; cet auteur réussit à provoquer le flétrissement des inflorescences du Pommier avec les souches du *Monilia laxa* , provenant des prunes et des cerises . Le Champignon responsable du flétrissement des fleurs du Pommier serait donc une forme biologique du *Monilia laxa* qu'HARRISON (21) appelle *Sclerotinia laxa* Aderh. et Ruhl. forme *mali* Wormald .

L'agent pathogène responsable des Monilioses répandues en Amérique du Nord, d'abord confondu pendant un certain temps avec le *Monilia fructigena* et le *Monilia laxa*, reçoit ensuite le nom de *Sclerotinia americana* (Wormald) Norton et Ezekiel ; puis , ROBERTS et DUNEGAN (48) le nomment définitivement *Sclerotinia fructicola* (Wint.) Rehm sous sa forme sexuée (point de vue partagé par HARRISON , 21) tandis que la forme asexuée est désignée sous le nom de *Monilia fructicola* (Wint.)Honey .

En résumé , les deux espèces qui font l'objet de notre travail sont définitivement désignées de la façon suivante :

<u>forme sexuée ascosporee</u>	<u>forme asexuée conidienne</u>
<i>Sclerotinia fructigena</i> (Pers.)Aderh. et Ruhl. = <i>Monilinia fructigena</i> (Aderh. et Ruhl.) Honey	
←---→ <i>Monilia fructigena</i> Pers.	
<i>Sclerotinia laxa</i> (Pers.) Aderh. et Ruhl. = <i>Monilinia laxa</i> (Aderh. et Ruhl.) Honey	←---→ <i>Monilia laxa</i> (Ehrenb.)Sacc.

II.- REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Selon WORMALD (68) , les principales aires de répartition du genre *Monilia* dans le monde sont les suivantes .

Espèce	Répartition géographique
<i>Monilia fructigena</i>	Europe , Japon , Mandchourie , Turquie et Uzbekistan
<i>Monilia laxa</i>	Europe , Japon , Mandchourie , Turquie et côte occidentale d'Amérique du Nord
<i>Monilia fructicola</i>	Amérique du Nord , Amérique du Sud , Australie et Nouvelle-Zélande .

Dans cette répartition , on note l'absence du *Monilia fructigena* en Amérique et en Australie et celle du *Monilia fructicola* en Europe .

En France , deux espèces sont fréquentes et provoquent des dégâts importants : *Monilia fructigena* et *Monilia laxa* . En outre , d'autres espèces sont signalées sur des hôtes économiquement moins importants : ainsi , sur le Cognassier , nous avons observé et isolé le *Monilia Linhartiana* Prill. et Del..

III.- CARACTERES MORPHOLOGIQUES

A.-FORME ASEXUEE

1.-Stade conidien

Les conidies du *Monilia* , disposées en chaîne , ellipsoïdes , hyalines , sont groupées sous forme de coussinets sporifères dont la formation est décrite par VIENNOT-BOURGIN (57) de la façon suivante .

Les thalles inclus dans la plante-hôte s'épanouissent progressivement en un ectostroma surmonté d'un sporodochium composé de rameaux érigés , cylindriques , le plus souvent simples , rarement dichotomes . Chaque filament présente rapidement des étranglements réguliers qui sont les prémices de la formation d'une chaîne de conidies dont l'isolement , par apparition des cloisons transversales , est assez tardif .

VIENNOT-BOURGIN (57) signale l'homogénéité existant dans la formation des chaînes de conidies du *Monilia fructigena* et l'oppose au cas du *Monilia Linhartiana* chez lequel on note la présence d'un court élément en fuseau , jouant le rôle de disjoncteur . Les coussinets sporifères, hémisphériques et duveteux , de coloration brun fauve chez le *Monilia fructigena*, gris cendré chez le *Monilia laxa* , mesurent respectivement 1 à 3 mm et moins de 1 mm de diamètre .

MOLZ (36) décrit pour la première fois le phénomène de la zonation des fructifications chez le *Monilia fructigena* et l'attribue à une alternance de lumière et d'obscurité .

Les dimensions des conidies des trois principales espèces du *Monilia* sont les suivantes (WORMALD , 68):

- *Monilia fructigena*.....12 à 34 x 9 à 15 Microns
- Monilia laxa*.... -conidies hivernales... 5 à 19 x 4 à 12 Microns
-conidies estivales.... 8 à 23 x 7 à 16 Microns
- Monilia fruticola*.....10 à 27 x 7 à 17 Microns

2.- Le sclérote

Le sclérote , forme de conservation , fait partie du cycle annuel de développement du Champignon dont il constitue un stade particulier ; en effet , il est quelquefois le support de la forme ascosporee .

Nous envisagerons le sclérote en général et nous préciserons sa formation dans le genre *Monilia* .

Selon WHETZEL (61) , le sclérote est constitué en majeure partie par la medulla , complètement ou partiellement entourée par le cortex ; cet auteur distingue les deux types morphologiques suivants .

Le type "sclerotial" communément appelé "sclérote" , a une forme plus ou moins caractéristique et une structure strictement hyphale dans les conditions naturelles de son développement .

Le type "substratal" peut parfois contenir des éléments de substrat dans sa medulla , il ne s'agit nullement de substances de réserves et leur présence est accidentelle .

Selon la classification de WHETZEL , le sclérote "tubéroïde" du genre *Sclerotinia* appartient au type "sclerotial" ; formé à partir des hyphes aériennes , il est rarement constitué du reste des tissus du support ; globulaire en l'absence de toute pression extérieure , il est souvent allongé , cylindrique , noueux , fusiforme ou même de forme irrégulière et aplatie lorsqu'il apparaît dans les cavités du support . La medulla , normalement blanche , quelquefois grise , rarement rosée , contient des filaments larges à parois épaisses , tissés ensemble d'une façon dense , séparés quelquefois par des petits espaces interhyphaux . Le cortex , de couleur foncée (généralement grise ou noire) , constitue une paroi mince formée de 2 ou plusieurs assises de cellules palissadiques ; la couleur noire de ces cellules est apparemment due à la présence de produits d'oxydation des constituants protoplasmiques .

BRENDA , TOWNSEND et WILLETTS (9) distinguent trois types de sclérote en considérant leur mode de formation .

Dans le type "terminal" (*Botrytis cinerea* Pers. , *Botrytis allii* Munn. et *Sclerotium cepivorum* Berk.) , les ramifications dichotomiques successives des hyphes de plus en plus cloisonnées sont suivies d'une fusion au niveau des cellules terminales .

Chez le *Rhizoctonia solani* Kuhn. , le sclérote résulte des ramifications successives et du cloisonnement des hyphes ordinaires ; à maturité , il est formé de cellules brunes , au contenu dense , en forme de tonnelet , étroitement liées les unes aux autres .

Dans le cas du *Sclerotium rolfsii* Sacc. et du *Sclerotinia gladioli* Drayt. , les cordons mycéliens émettent des ramifications qui deviennent coalescentes , produisant ainsi un sclérote .

En ce qui concerne le genre *Monilia* , WILLETTS (63) décrit la formation du sclérote chez les trois principales espèces .

Les initiales du sclérote du *Monilia fructicola* se développent par une ramification dichotomique des hyphes , suivie de la formation des cloisons transversales . Le phénomène aboutit à la formation d'une masse d'hyphes enchevêtrées ; des coalescences entre les hyphes voisines augmentent le contact entre les filaments mycéliens et permettent la formation d'un tissu de plus en plus compact . Les agrégats mycéliens noircissent progressivement ; plusieurs d'entre eux , proches les uns des autres , fusionnent pour donner plus tard naissance à des sclérotés caractéristiques qui se développent sur le milieu de culture .

Le développement mycélien du *Monilia laxa* est souvent décrit comme étant scorpioïde et géniculé par suite d'une croissance inégale des ramifications dichotomiques . Certaines branches croissent de façon à former un peloton partiel ou complet ; ce type de croissance circulaire des ramifications successives aboutit à la formation de petits agrégats sphériques d'hyphes végétatives , souvent liées par un cordon de 3 ou 4 hyphes étroitement unies . La coalescence des masses d'hyphes et leur noircissement aboutissent à la formation d'un "stroma" continu .

Chez le *Monilia fructigena* , les hyphes ne se ramifient pas fréquemment ; leur croissance continue produit un réseau de cordons mycéliens formant un tissu compact . La coalescence entre les filaments du "stroma" n'est pas évidente .

Chez le *Monilia fructicola* , le même auteur (WILLETTS, 64) , au cours

d'une étude sur la formation du sclérote aux dépens des fruits à pépins et à noyau , remarque que le "stroma" formé dans les fruits est similaire à celui différencié sur un milieu de culture à base d'extrait de malt , la seule différence étant la présence de quelques cellules de la plante-hôte à l'intérieur de la medulla .

Selon VIENNOT-BOURGIN (57) , le sclérote du *Monilia* se forme sur les momies de pêches et de pommes par la différenciation , immédiatement au-dessous de l'épiderme du fruit , d'un pseudo-tissu lamelleux , mince , noir , d'abord mou et élastique , puis corné , qui constitue la masse du sclérote .

B.-FORME SEXUEE ASCOSPOREE

Dans le genre *Sclerotinia* , l'appareil de reproduction sexuelle , le carpophore , est une pézize pédonculée .

La forme parfaite du *Monilia* a rarement été observée en Europe (WORMALD, 68) , où elle ne semble jouer aucun rôle dans le cycle de la maladie .

ADERHOLD et RUHLAND (1) ont remarqué que les apothécies du *Monilia laxa* se forment au cours du second printemps qui suit l'infection des abricots , et le même temps est nécessaire pour l'élaboration de la forme parfaite chez le *Monilia fructigena* parasitant les pommes .

D'après EZEKIEL (15) , le froid est probablement un facteur influençant la production d' apothécies. TERUI et HARADA (52) , dans leur étude sur la production des apothécies par le *Monilinia mali* sur les pommes , démontrèrent que les basses températures (0°) favorisent la production de la forme parfaite de ce Champignon ; ces auteurs (53) , en employant un milieu synthétique dont la composition est assez complexe , sont arrivés à obtenir des apothécies de *Monilinia mali* dans des conditions précises . Le "stroma" caoutchouteux , formé après un mois à 20° , est conservé à 15° pendant le mois suivant , puis placé sur le sable mouillé et gardé à 0° pendant deux mois , enfin transporté à la température de 7° . Les ébauches des apothécies apparaissent alors 40 jours plus tard ; en lumière continue , la complète maturation des apothécies s'opère après 45 jours .

D'après les mêmes auteurs (TERUI et HARADA , 54) , les apothécies du *Monilia fructicola* ont été observées pour la première fois en 1963 , au Japon dans la région d'Akita , sur les momies de cerises .

WORMALD (68) indique les dimensions suivantes pour les asques et les

ascospores des trois principales espèces du *Monilia* :

Espèces	Asques (en microns)			Ascospores (en microns)		
<i>Monilia fructigena</i>	112 à 180	x	9 à 12	9 à 12,5	x	5 à 6,8
<i>Monilia laxa</i>	121 à 188	x	7,5 à 11,8	7 à 19	x	4,5 à 8,5
<i>Monilia fructicola</i>	102 à 215	x	6 à 13	6 à 15	x	4 à 8,2

IV.- ETUDE BIOLOGIQUE

A.-DIVERSES FORMES DE CONSERVATION

1.- Les momies

Les momies peuvent être considérées comme les sources principales d'inoculum dans le verger . Les fruits tombés sont en général détruits plus ou moins rapidement par les Oiseaux , les Insectes , les Vers , etc., par la microflore saprophyte , tandis que ceux qui restent sur l'arbre constituent des éléments de conservation du *Monilia* : on donne le nom de momies à ces supports des agents de dissémination de la maladie .

Les momies portent des coussinets dont le mycélium produit les conidies capables d'assurer la dissémination de la maladie d'une saison à l'autre . C'est sur les momies que se forme le sclérote qui entre en activité au début du printemps en produisant le mycélium qui donne naissance aux conidies .

2.- Les chancres

Les chancres constituent une source d'inoculum qui permet la dissémination précoce de la maladie au printemps . D'après VIENNOT-BOURGIN (58) , on peut observer les chancres formés par le *Monilia laxa* dès la fin du printemps et au début de l'été , à la suite de l'infection des inflorescences ; ceux formés par le *Monilia fructigena* sont visibles à la fin de l'été après la destruction des pommes .

3.- Les bourgeons

La présence du mycélium du *Monilia fructigena* a été mise en évidence par BONDoux (4) dans les bourgeons restant inactifs au débourrement (Cerisier, Poirier et Pommier) .

Le *Monilia laxa* a été isolé à partir des bourgeons de Pruniers (Prunier d'Ente et Mirabellier) presque simultanément par BONDoux , LANCRENON et RE-NAUD (5) , PALAZON (42) , à partir des bourgeons d'Abricotier et de

Cerisier par BONDOUX et OLIVIER (6) ; ces deux auteurs ont également isolé le *Monilia Linhartiana* à partir des bourgeons de Cognassier .

La présence fréquente du *Monilia laxa* à l'état latent dans les bourgeons de certaines Rosacées fruitières (Prunier , Cerisier) pourrait expliquer les dégâts provoqués sur les fleurs ou les pousses issues de ces bourgeons .

B.-DISPERSION DES SPORES

Après leur différenciation complète , les conidies se détachent les unes des autres (libération passive) et se dispersent dans le milieu environnant, ce qui assure la dissémination de la maladie . Les facteurs climatiques (vent, pluie) jouent un rôle primordial dans la dispersion des spores du *Monilia* . Dans les vergers , où existent des sources de contamination comme les momies et les chancres , la pluie est le principal agent de dissémination . Les Insectes fructicoles (en particulier les Guêpes) peuvent également jouer un rôle dans le transport des spores du *Monilia* , mais ce mode de dissémination ne semble pas très important .

C.- MODALITES DE PENETRATION

1.-Pénétration par blessure

Les espèces du genre *Monilia* sont connues comme parasites de blessure du fait que la contamination a lieu à la suite des lésions provoquées sur le fruit . Des facteurs très divers peuvent être à l'origine des blessures : les Oiseaux , les Insectes , les chutes de grêle ; une période de sécheresse suivie de la pluie détermine aussi l'éclatement de l'épiderme . L'infection primaire due à d'autres Champignons peut également provoquer des ruptures de l'épiderme servant de voie d'entrée au *Monilia* ; ainsi , les lésions causées sur les pommes par le *Spilotea pomi* Fr., sur les poires par le *Fusicladium pirinum* (Lib.) Fück. constituent une voie d'entrée pour le *Monilia fructigena* et le *Monilia fructicola* respectivement (OVTSHINNIKVA , 41), les craquelures produites sur les fruits à noyau par le *Fusicladium carpophilum* Oud. déterminent l'invasion du *Monilia fructicola* (ROSE et al., 50).

2.- Pénétration par voie naturelle

Parfois les spores du *Monilia* (en particulier celles du *Monilia laxa* et du *Monilia fructicola*) peuvent contaminer les fruits par des voies naturelles . COOLEY (10) , en déposant quelques gouttes d'une suspension de spores sur des prunes , remarque que le *Monilia fructicola* peut les contaminer sans

blessures , le Champignon ayant pénétré par les stomates ou les lenticelles. CURTIS (11) fait la même observation à propos des prunes et des abricots , et montre aussi que le mycélium peut progresser à travers les poils épidermiques des pêches .

HORNE (25) , par une méthode spéciale qui consiste à laisser germer le *Monilia fructigena* sur des pommes saines pendant une durée relativement longue, est arrivé à provoquer l'infection par les voies lenticellaires ; c'est probablement de cette manière que s'effectue la contamination d'un fruit sain au contact d'un fruit malade , ce qui aboutit à la formation de " nids à *Monilia* " au verger , comme en local de conservation .

WADE (59) , à la suite d'une étude histologique portant sur les abricots verts , met en évidence la présence des filaments mycéliens du *Monilia fructicola* dans les stomates de l'épiderme ; cet auteur , considérant la possibilité d'une infection latente des fruits , émet l'hypothèse de la présence d'une certaine substance inhibitrice arrêtant l'infection . Un autre cas d'infection latente est dû à la présence de conidies de *Monilia fructicola* sur les poils épidermiques des pêches (JEROME , 28) . La notion d'infection latente a récemment été remise en question par JENKINS et REINGANUM (26); selon ces auteurs , l'infection est , en réalité , consécutive aux lésions macroscopiquement visibles existant sur les fruits , et , de ce fait , ils proposent de remplacer l'expression "infection latente" par le terme infection quiescente . On peut provoquer une telle infection en inoculant des conidies de *Monilia fructicola* aux abricots verts , les symptômes se produisent , mais la pourriture ne se développe qu'après une certaine période (période de quiescence) quand les fruits sont suffisamment mûrs .

De nombreuses études ont été effectuées sur les possibilités de pénétration des différentes espèces de *Monilia* dans les pièces florales . Dès 1900 , WORONIN (69) signale la possibilité d'infection des stigmates . En 1919 , WORMALD (68) montre la réceptivité des organes floraux de l'Abricotier par des inoculations artificielles ; chez le Pêcher , tous les organes floraux peuvent être infectés par les conidies du *Monilia fructicola* (ROBERTS et DUNEGAN , 49 , WEAVER , 60) . L'infection des pétales par le *Monilia laxa* peut être induite chez le Poirier , celle des fleurs non ouvertes chez le Cerisier Morello (WORMALD , 66 , 67) et l'Abricotier (JOESSEL , 29) ; JUNG (30) , puis SCHONBECK (51) , qui ont repris cette étude du point de vue histologique , remarquent l'arrêt du développement du mycélium dans le style. WILLER (62) publie de nombreux travaux sur la détection du mycélium du

Monilia laxa dans les stigmates du Cerisier . A la suite d'une série d'expériences , OLIVIER et BONDOUX (40) ont réussi à produire une infection stigmatique par le *Monilia laxa* , le *Monilia fructigena* , le *Botrytis cinerea* Pers. et le *Cylindrocarpon mali* (All.) Wr., sur des fleurs coupées (pédoncules trempant dans l'eau) appartenant à trois espèces fruitières (Merisier , Pommier et Cognassier) . Les mêmes auteurs ont mis en évidence l'arrêt de la progression du mycélium du *Botrytis cinerea* et du *Monilia fructigena* au niveau du style chez le Pommier (inoculation dans le verger) (°).

D.- IMPORTANCE DES FACTEURS CLIMATIQUES

Le développement du *Monilia* est favorisé par un temps doux et pluvieux . Au mois de Juin 1971 , nous avons observé une attaque très importante du *Monilia laxa* et du *Botrytis cinerea* sur les Cerisiers en Anjou ; l'envahissement par le *Monilia laxa* qui a une conséquence grave sur le plan économique , était consécutif à l'éclatement d'une proportion importante des fruits , provoqué par une alternance de périodes sèche et humide .

V.- ETUDE PHYSIOLOGIQUE

A.-FACTEURS PHYSIQUES

1.-Influence de la lumière

De nombreux chercheurs ont étudié l'action de la lumière sur le comportement des différentes espèces du *Monilia* . MOLZ (36) , en 1907 , fait observer que la lumière est nécessaire au développement des conidies du *Monilia fructigena* et que les cercles concentriques de la fructification résultent de l'alternance de la lumière et de l'obscurité .

En 1933 , HALL (19), confirmant les résultats précédents, montre que la sporulation du *Monilia laxa* est favorisée par la lumière du jour ; il se forme une zonation qui semble constituée essentiellement par les masses de conidio-phores et on ne constate aucune variation dans l'épaisseur du feutrage mycélien .

DICKSON (13) signale que le *Monilia fructigena* produit une certaine zonation quand il est soumis à une température constante et à une alternance de lumière et d'obscurité ; la croissance en surface atteint son maximum sous l'effet d'une alternance de l'ordre d'une minute , elle est minimale pour une période d'alternance de 5 secondes .

(°) OLIVIER et BONDOUX : Recherches inédites .

En ce qui concerne l'effet de la photopériode sur la zonation , JEREBZOFF (27) place les *Monilia* dans la catégorie des Champignons à rythme endogène "non autonome" , chez lesquels la zonation continue à se manifester même après l'arrêt des excitations qui l'ont provoquée .

2.- Influence de la température

RIBALDI (46) , étudiant le comportement du *Monilia fructigena* , remarque que le diamètre des hyphes mycéliennes peut varier en fonction de la température ; il fait observer que les températures favorables au développement de ce Champignon sur les tissus de pommes, sont situées entre 18 et 26° avec un optimum vers 22-25° . KASTER (31) et FISCHER (16) sont parvenus à des résultats analogues .

WORMALD (68) signale que les basses températures , voisines du point de congélation de l'eau , retardent la croissance mais ne l'arrêtent pas complètement ; la température optimale de croissance du *Monilia fructigena* est 25° et ce fait explique la progression rapide de la pourriture sur les fruits infectés en été .

OGAWA et ENGLISH (38) remarquent la formation des corps mycéliens "rhizoïdes" du *Monilia laxa* , à 4° , sur un milieu gélosé à base de dextrose (1%).

RENAUD (45) montre que la croissance mycélienne du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* est nulle à 0° , sur un milieu à base d'extrait de malt ; elle débute à 4° pour le *Monilia laxa* , elle est optimale pour les deux espèces entre 18 et 25° . Les températures de -20° pendant 8 heures ne sont pas létales ni pour le mycélium , ni pour les conidies ; par contre , les températures élevées (55 à 60°) détruisent le mycélium et les conidies . RENAUD constate également que la germination des conidies ne dépend pas de la température : elle a lieu entre 1 et 30° .

B.- FACTEURS TROPHIQUES

Le milieu utilisé joue un rôle déterminant dans la croissance mycélienne , la sporulation et la formation du sclérote .

WORMALD (68) , ensemençant le *Monilia* sur un milieu gélosé à base de pruneau , ou sur le milieu Pomme de terre-dextrose-agar (P.D.A.), ou sur le milieu CZAPECK , constate que le *Monilia fructicola* produit facilement des conidies , le *Monilia laxa* et le *Monilia fructigena* moins facilement ; sur le milieu à base de pruneau , le *Monilia laxa* et le *Monilia fructigena* ne fructifient pas ou très peu tandis que le *Monilia fructicola* produit des spores abondantes dans les mêmes conditions .

Selon RENAUD (45) , la croissance du *Monilia fructigena* est plus importante sur milieu azoté que sur milieu sucré ; par contre , la sporulation est favorisée par les sucres . En ce qui concerne la formation du sclérote ,RENAUD propose d'utiliser un milieu gélosé à base d'extrait de malt pour le *Monilia fructigena* et d'Avoine pour le *Monilia laxa* .

En ce qui concerne les vitamines , KOGL et FRIES (32) constatent que la croissance du *Monilia cinerea* (*Monilia laxa*) peut être stimulée par une ou plusieurs substances du type biotine , méso-inositol et aneurine .

TERUI et HARADA (53) ont mis au point un milieu synthétique complexe permettant la formation des apothécies du *Monilia mali* dans des conditions physiques bien déterminées (voir p.14) ; la composition de ce milieu est la suivante :

-K H ₂ PO ₄	0,5 g
-Mg SO ₄ ,7H ₂ O.....	0,2 g
-CaCl ₂ ,2H ₂ O	0,1 g
-FeCl ₃ ,6H ₂ O	0,1 g
-peptone	50 g
-saccharose	100 g
-biotine	5 μ g
-thiamine.....	100 g
-gélose.....	20 g
-eau distillée Q.S.P.....	1000 ml

C.- INFLUENCE DE SUBSTANCES ANTAGONISTES DU MONILIA

L'influence de certaines substances sur le développement du *Monilia* détermine un antagonisme de croissance qui se traduit par la formation du sclérote.

LUCAS , LEWIS et SELL (35) ont déjà mis en évidence l'action antagoniste d'un extrait de semences de Carottes sur la croissance de plusieurs micro-organismes , en particulier sur celle du *Monilia fructicola* ; LITTLE , SPROSTION et FOOTE (34) obtinrent des résultats identiques chez cette dernière espèce en utilisant un extrait de Balsamine contenant du 2-méthoxy-1,4-naphtoquinone (cette substance aurait une valeur fongicide) .

L'action antagoniste de différents micro-organismes sur la croissance du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* a déjà été signalée par DARPOUX et FAIVRE-AMIOT (12) , puis par VASUDEVA (55) .

D.- SENSIBILITE DES FRUITS AU MONILIA EN FONCTION DE LEUR STADE PHYSIOLOGIQUE

OGAWA (37) a montré que la sensibilité des fruits de différentes espèces de *Prunus* augmente avec leur maturation ; ce phénomène est attribué à l'épaisseur de l'épiderme ou à des constituants chimiques des cellules parenchymateuses du ~~tube anastomotique~~ *mésocarpe* .

Un essai de pulvérisation des spores du *Monilia fructicola* sur les fruits verts et les fruits mûrs a montré que , chez les fruits verts , le pourcentage de la germination ainsi que la longueur des tubes germinatifs sont réduits par rapport à ceux des fruits mûrs (infection latente) .

VI.- ETUDE CYTOLOGIQUE

Les études cytologiques peu nombreuses concernant les *Monilia* sont limitées à la mise en évidence des noyaux à l'intérieur des conidies et des cellules mycéliennes ainsi qu'à leur migration . En 1934 , HEUBERGER (22) signale la nature multinucléaire des conidies du *Monilia fructicola* . HALL (20) met en évidence de 4 à 10 noyaux dans les conidies du même Champignon .

HOFFMANN (23) , utilisant un mélange fixateur formé de trois parties d'alcool éthylique à 95^c pour une partie d'acide acétique normal et un colorant à base de GIEMSA (Azur-Eosine-Bleu de méthyle) , fait les observations suivantes concernant le *Monilia laxa* et le *Monilia fructigena* .

1.-Les cellules terminales des filaments mycéliens des deux espèces contiennent un nombre de noyaux très élevé : on peut y trouver jusqu'à 100 noyaux dans un mycélium âgé de 24 à 48 heures .

2.-Le nombre des noyaux par cellule est variable (2 à 30) ; il est inférieur dans un mycélium plus âgé .

3.-Une migration intense des noyaux se produit dans un mycélium végétatif et dans les hyphes sporulées ainsi qu'à l'intérieur des hyphes liées à la suite d'une anastomose .

Les données bibliographiques que nous avons réunies nous ont révélé l'insuffisance des connaissances acquises , en particulier en ce qui concerne le comportement physiologique des agents des Monilioses . Dans le but d'apporter quelques précisions sur le phénomène de la morphogenèse du sclérote , nous avons entrepris d'étudier d'une part , l'influence de quelques facteurs

physiques et trophiques sur le développement des deux espèces européennes du *Monilia*, et d'autre part , l'effet du phénomène d'antagonisme microbien sur le processus d'induction du sclérote chez les deux espèces .

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL-TECHNIQUES GENERALES

I.- MATERIEL

Les expériences ont été réalisées à partir d'isolats monospores provenant de pourritures de poires (*Monilia fructigena* : isolat B) et d'abricot (*Monilia laxa* : isolat X) choisis parmi les huit isolats monospores suivants :

Isolats de *Monilia fructigena*

A : abricot
B : poire
C : pomme
D : prune
E : pêche

Isolats de *Monilia laxa*

X : abricot
Y : pêche
Z : prune

Tous les isolats monospores ont été inoculés au préalable sur des pommes mures de la variété "Golden delicious" . Le diamètre moyen des taches de pourriture provoquées 4 jours après l'inoculation est de l'ordre de 42 mm pour le *Monilia fructigena* , 37 mm pour le *Monilia laxa* . Les différences de diamètre entre les 5 isolats du *Monilia fructigena* ne sont pas très significatives (l'écart maximal n'excède pas 3 mm) ; dans le cas du *Monilia laxa* , elles sont plus importantes (l'écart maximal est de 7 mm) .

C'est l'homogénéité de la culture , sa stabilité , la régularité de la vitesse de croissance mycélienne observées au cours des repiquages successifs sur le même substrat nutritif qui ont servi de critère à notre choix .

Les isolats B et X se distinguent facilement sur les milieux organiques,

en particulier sur le milieu à base d'extrait de malt à 5% , en lumière continue et à 25° (fig.1 et 2). Chez le *Monilia fructigena* , le mycélium dense

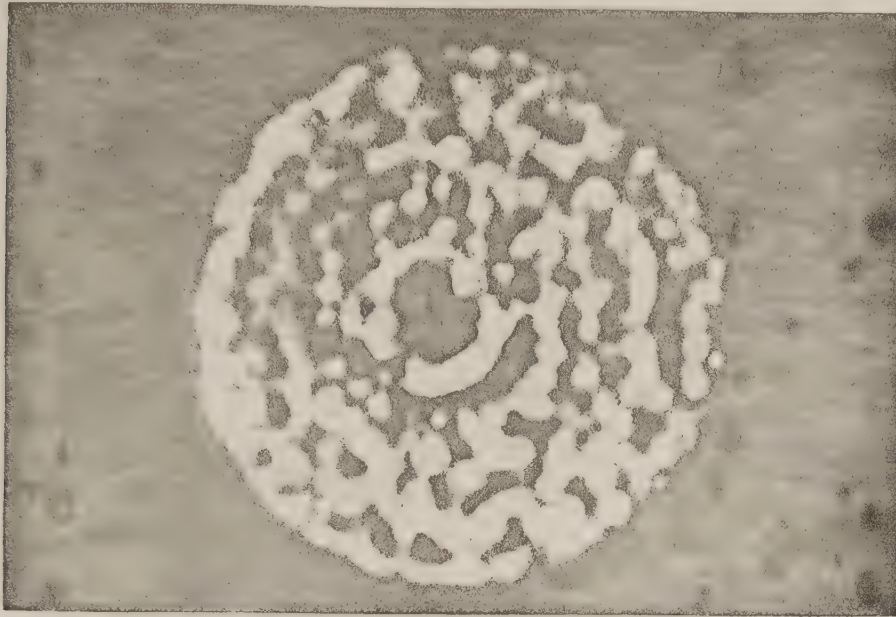


Fig.1.-*Monilia fructigena* .- Croissance mycélienne normale (extrait de malt à 5%) (x 1)



Fig.2.- *Monilia laxa* .- Croissance mycélienne normale (extrait de malt à 5%) (x 1)

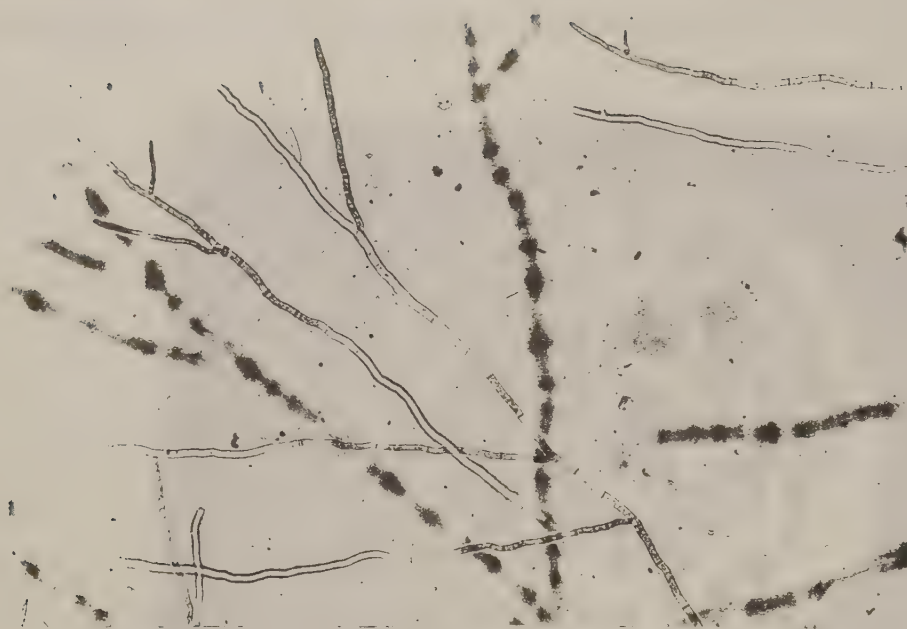
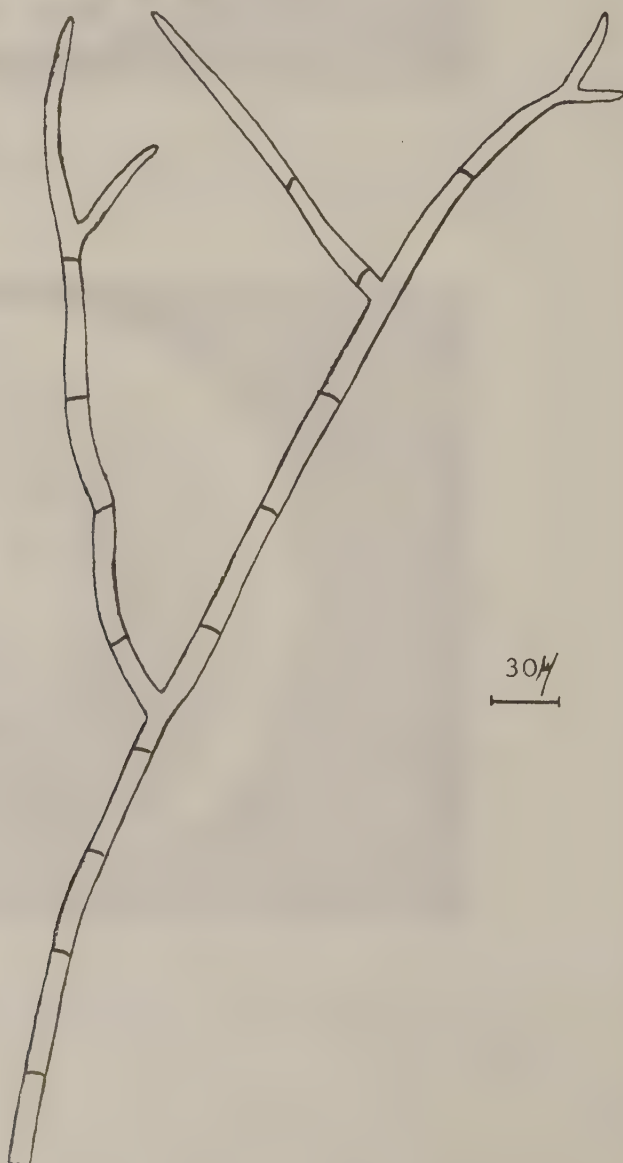


Fig.3.-*Monilia fructigena*. - Croissance sub-rectiligne des filaments marginaux (extrait de malt à 5%)

100 μ

Fig.4.-*Monilia fructigena*. - Détail des filaments marginaux .



30 μ

est très abondant , la sporulation normale ; chez le *Monilia laxa*, le mycélium est beaucoup plus rare, la sporulation extrêmement abondante . Au niveau du thalle , la croissance des filaments marginaux est subrectiligne chez le *Monilia fructigena* (fig.3 et 4) , sinueuse chez le *Monilia laxa* (fig.5 et 6).

Chez les deux espèces, la différenciation du sclérote est caractérisée par la formation d'un pigment brun qui devient progressivement noir au cours de sa maturation (nous entendons par maturation du sclérote son individualisation dans le milieu de culture et l'acquisition de l'aptitude à la germination).



Fig.5.-*Monilia laxa* .-Croissance sinueuse des filaments marginaux (extrait de malt à 5%)



Fig.6.-*Monilia laxa*.-Détail des filaments marginaux.

Les isolats C et Y ont été également utilisés au cours de l'étude du phénomène d'antagonisme .

II.- TECHNIQUES GENERALES

Dans les cultures faites à partir d'isolats provenant directement de fruits infectés , nous avons observé de nombreuses variations; dans le but de diminuer leur fréquence et leur amplitude , nous avons effectué des isolements monospores mais là encore les conidies du *Monilia* étant plurinucléées , nous avons observé au cours des repiquages successifs une certaine hétérogénéité (les noyaux n'ayant peut-être pas la même constitution génétique) ; afin de diminuer cette hétérogénéité , nous avons effectué nos prélèvements à partir d'une même colonie se trouvant en croissance exponentielle et pour chaque expérience nous avons fait trois essais .

A.-ISOLEMENT MONOSPORE

Quelques gouttes d'une suspension de spores dans l'eau stérile ont été déposées à l'aide d'une micropipette PASTEUR , puis étalées (étalement type bactériologique) sur un milieu gélosé . Les cultures sont ensuite exposées à la lumière continue à 25° . Après 20 heures , de nombreuses conidies ont donné naissance à un filament germinatif : le taux de germination est de l'ordre de 72% dans le cas du *Monilia fructigena* et de 78% pour le *Monilia laxa* .

Sous la loupe binoculaire et à l'aide d'une aiguille de verre étirée à la flamme à partir d'une pipette PASTEUR , quelques conidies germées ont été prélevées une à une et déposées sur un milieu gélosé , à base d'extrait de malt à 2% , dans des boîtes de PETRI (une vérification a toujours été effectuée sous la loupe binoculaire pour s'assurer de l'isolement monospore).

Les cultures monospores sont exposées à la lumière continue à 25° ; les colonies mycéliennes sont formées après 48 heures .

B.-CULTURES DES CHAMPIGNONS

Les milieux de culture utilisés seront décrits ultérieurement .

Les cultures , réalisées dans des conditions aseptiques rigoureuses , sont effectuées dans des boîtes de PETRI ou de ROUX préalablement stérilisées .

Au cours des différents repiquages , le mycélium marginal de la culture en phase de croissance exponentielle est prélevé à l'aide d'un emporte-pièce de 6 mm de diamètre .

TROISIEME PARTIE

RECHERCHES EFFECTUEES

CHAPITRE PREMIER

ETUDE DE QUELQUES ASPECTS DU COMPORTEMENT PHYSIOLOGIQUE DES ESPECES ETUDIEES.

I.- INFLUENCE DES FACTEURS PHYSIQUES

Nous avons étudié les effets de l'éclairement et de la température d'une part , sur la croissance mycélienne et la sporulation , et , d'autre part , sur la morphogenèse du sclérote .

A.- CONDITIONS EXPERIMENTALES

1.-Milieu

Nous utilisons un milieu à base d'extrait de malt à 5% , contenant 20 g de gélose par litre .

2.-Eclairement - Température

Les conditions d'éclairement sont les suivantes : lumière continue , obscurité ou éclairement quotidien de 8 heures ; dans chacun de ces cas , les cultures sont réparties en deux lots placés soit à 23-26° , soit à 10° .Des essais de culture à 30° s'avèrent négatifs .

TABLEAU I. - Influence de quelques facteurs physiques sur le comportement du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* .

Conditions expérimentales	Diamètre moyen (en mm.) de la colonie mycélienne après 7 jours		M.f.	Sporulation après 15 jours		Sclérote après 30 jours	
	M.f.	M.L.		M.L.	M.f.	M.L.	
t = 23 à 26° lumière con- tinue	54,6	60	-généralisée -dense	-généralisée -dense	+	++	
t = 23 à 26° obscurité	43,6	45,6	nulle	-peu abondan- te -limitée par zones	++	+	
t = 23 à 26° lumière : 8h obscurité: 16h	55	70	-généralisée -peu dense	-généralisée -peu dense	+++	+++	
t = 10° lumière con- tinue	34	37	-généralisée -peu dense	-généralisée -peu dense	++	nul	
t = 10° obscurité	16	26	nulle	-peu abondan- te -limitée par zones	++++	nul	
t = 10° lumière : 8h obscurité: 16h	32,3	34,3	-généralisée -peu dense	-généralisée -peu dense	+++	nul	

+ : pigment brun
++ : pigment noir, extension
limitée
+++ : sclérote sur 1/3 (en-
viron) de la surface
du milieu
++++ : sclérote sur 2/3 (en-
viron) de la surface
du milieu

Milieu de culture :
extrait de malt à 5%

TABLEAU II.- Influence de quelques facteurs physiques sur la formation du sclérote du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa*.

Période d'observation Conditions expérimentales	7 jours après l'ensemencement		au moment de l'envahissement complet du milieu		7 jours après l'envahissement complet du milieu		14 jours après l'envahissement complet du milieu	
	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.
t = 23 à 26° lumière continue	nul	nul	nul	nul	+	++	+	++
t = 23 à 26° obscurité	+	nul	++	nul	++	nul	++	+
t = 23 à 26° lumière: 8 h obscurité: 16 h	+	nul	++	++	+++	+++	++++ (1)	++++ (2)
t = 10° lumière continue	nul	nul	+	nul	++	nul	+++	nul
t = 10° obscurité	+	nul	+++	nul	++++	nul	++++ (3)	nul
t = 10° lumière: 8 h obscurité: 16 h	+	nul	++	nul	+++	nul	++++ (4)	nul

+ : pigment brun
++ : pigment noir
+++ : sclérote non mature
++++ : sclérote mature

(1) : sclérotos abondants
(2) : sclérotos peu abondants
(3) : sclérotos peu abondants
(4) : sclérotos assez abondants

Milieu de culture :
extrait de malt à 5%

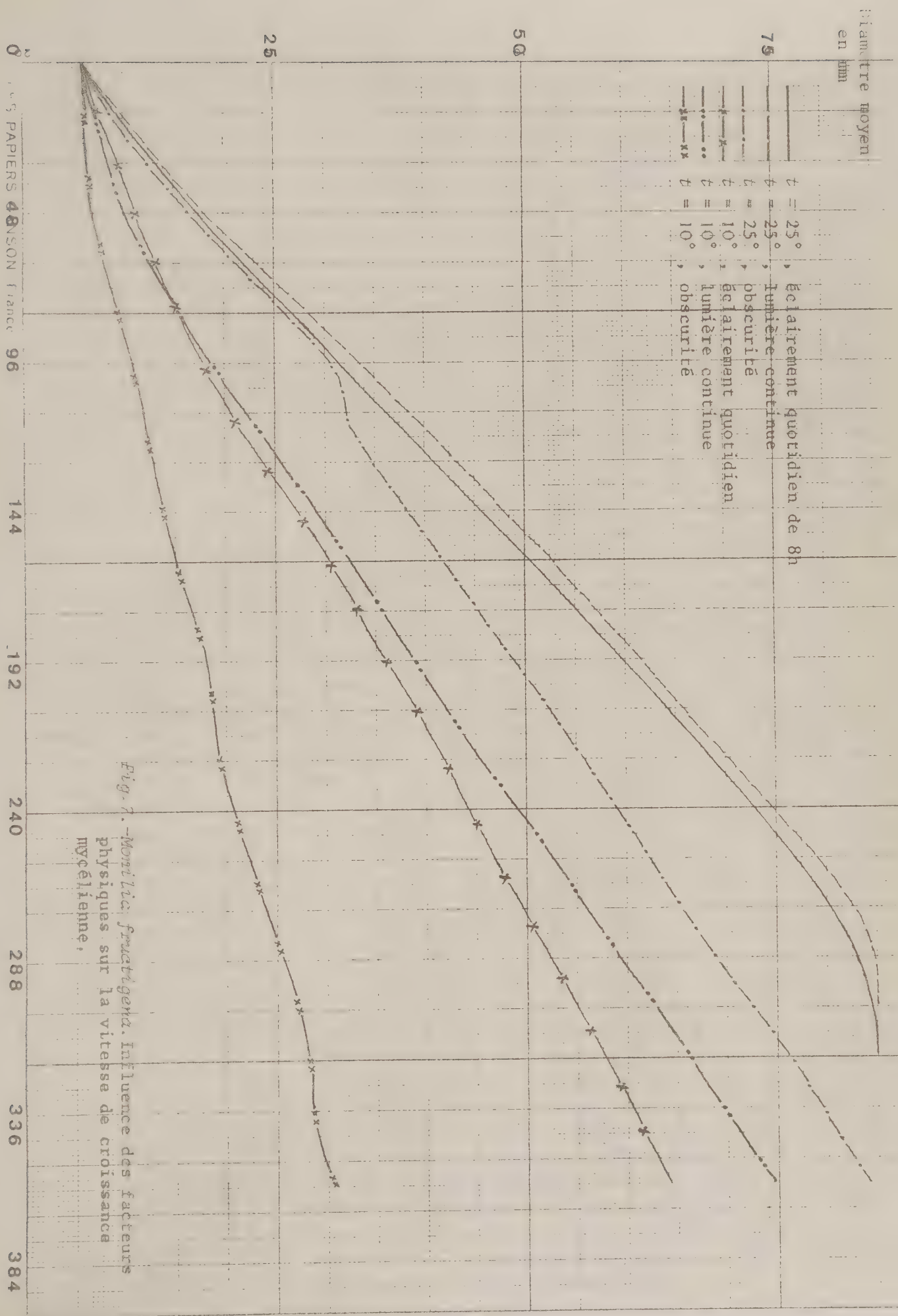


Fig. 7. - *Morille fructigena*. Influence des facteurs physiques sur la vitesse de croissance mycélienne.

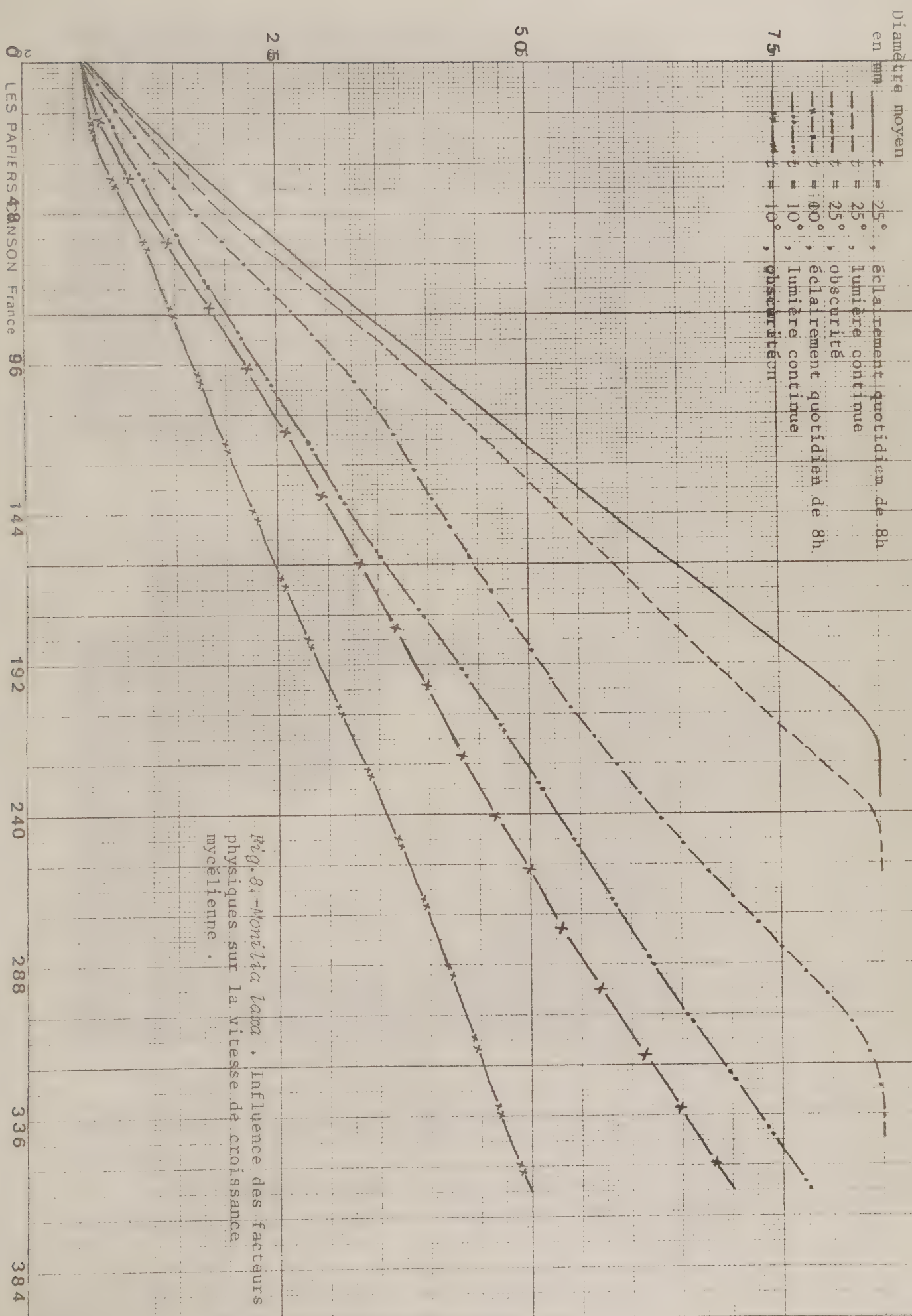


Fig. 8. - *Monilia lara*, Influence des facteurs physiques sur la vitesse de croissance mycélienne.



Fig.10.- *Monilia laxa*. - Inhibition partielle de la sporulation et lobation de la colonie à plusieurs niveaux ; culture âgée de 24 jours (extrait de malt à 5%). (x1)



Fig.11.- *Monilia fructigena*. - Inhibition complète de la sporulation ; culture âgée de 26 jours (extrait de malt à 5%) . (x 1)

B.-RESULTATS

Le *tableau I* (p.30) représente l'ensemble des résultats obtenus dans les diverses conditions expérimentales , le *tableau II* (p.31) donne des précisions concernant la morphogenèse du sclérote et les *figures 7 et 8* (p.32 et 33) représentent la vitesse de croissance mycélienne mesurée par le diamètre moyen des colonies .

Les résultats obtenus sont les suivants .

1.- Les températures de 23 à 26° et la lumière continue sont les conditions optimales pour obtenir un bon développement mycélien et une sporulation abondante chez les deux espèces (*fig.1 et 2* , p.24) .

2.- L'obscurité , à 23-26° , induit la formation du sclérote chez les deux espèces; dans le cas du *Monilia fructigena* , la différenciation d'un pigment noir (il s'agit vraisemblablement de composés mélaniques) matérialise macroscopiquement le déclenchement du processus(*fig.9*) .



Fig.9.-Monilia fructigena .
Différenciation pigmentaire
précédant l'individualisation des sclérotés; face inférieure d'une culture âgée de 9 jours (extrait de malt à 5%).
(x 1)

L'inhibition de la sporulation est partielle chez le *Monilia laxa* (*fig.10*), totale chez le *Monilia fructigena* (*fig.11*) où quelques rares traces de sporulation sont parfois différenciées dans la culture .

3.- Un éclaircissement quotidien de 8 heures , à 23-26° , donne des résultats positifs en ce qui concerne la croissance mycélienne et la formation du sclérote .

4.- Les températures de 10° sont favorables à la morphogenèse du sclérote chez le *Monilia fructigena* ; le phénomène est plus marqué à l'obscurité

qu'en lumière continue (fig.12) . Dans le cas du *Monilia laxa* , à 10° et



Fig.12.-*Monilia fructigena*. -Individualisation des sclérotés. Au centre, la croissance mycélienne normale résulte d'une exposition des cultures à la lumière continue et à 25° , avant leur séjour à l'obscurité et à 10° (extrait de malt à 5%). (x 1)

à l'obscurité , on remarque l'absence de pigmentation et la présence de formations mycéliennes particulières (voir p. 88), pédicellées et plus ou moins sphériques (fig.13).



Fig.13.-*Monilia laxa*. -Formations mycéliennes particulières sur les marges de la culture; au centre, la croissance mycélienne normale résulte d'une exposition à la lumière continue et à 25° , avant le séjour à l'obscurité et à 10° (extrait de malt à 5%). (x 1)

5.- Les hautes températures (30°) sont létales pour les deux espèces; le mycélium prend un aspect grisâtre après arrêt de la croissance .

II.- INFLUENCE DES FACTEURS TROPHIQUES

A.-CONDITIONS EXPERIMENTALES

1.-Milieux

Nous avons utilisé un certain nombre de milieux nutritifs employés couramment pour la culture *in vitro* des Champignons .

a.-Milieux organiques

Milieu à base d'extrait de Pomme de terre	Milieu à base d'extrait de malt	Milieu SABOURAUD à base de néo-peptone de DIFCO
Pomme de terre 200 g	malt.....20 ou 50 g	néo-peptone(°)....10 g
glucose.....0 ou 20g		glucose.....30 g
gélose..... 20 g	gélose.....20 g	gélose.....20 g
eau distillée QSP 1000 ml	eau distillée QSP 1000 ml	eau distilléeQSP1000ml

(°).-La peptone utilisée contient un mélange de macro- et de micro-éléments et trois acides aminés : la tyrosine , le tryptophane et la cystine présents sous forme de polypeptides dont les proportions moléculaires d'acides aminés sont variables .

Dans les différents milieux , la croissance mycélienne , la sporulation et même la formation du sclérote s'effectuent normalement mais les résultats obtenus ne peuvent être interprétés de façon rigoureuse étant donné la complexité et l'inconstance de leur composition .

b.-Milieu CZAPECK et ses dérivés

Nous avons donc été amené à utiliser un milieu de composition connue , constante , le milieu CZAPECK :

-phosphate de potassium(K_2HPO_4).....	1 g
-nitrate de sodium($NaNO_3$).....	2 g
-chlorure de potassium(KCl).....	0,5 g
-sulfate de magnésium($MgSO_4, 7H_2O$).....	0,5 g
-sulfate ferreux($FeSO_4, 7H_2O$).....	0,01 g
-d-glucose	20 g
-gélose	20 g
-eau distillée Q.S.P.....	1000 ml

T A B L E A U I I I , - M i l i e u x d é r i v é s d u m i l i e u " S "

1.- "S" + d-glucose (20 g/l) + l-MET (0,5 g/l)	16.- "S" + d-glucose(20g/l) + GLY(0,5g/l) + oligo-éléments
2.- "S" + saccharose(38g/l) + l-MET (0,5 g/l)	17.- "S" + d-glucose(20g/l) + l-TYR(0,5g/l)+ oligo-éléments
3.- "S" + maltose (38 g/l) + l-MET (0,5 g/l)	18.- "S" + d-glucose(20g/l) + dl-TRY(0,5g/l)+ oligo-éléments
4.- "S" + lactose (38 g/l) + l-MET (0,5 g/l)	19.- "S" + d-glucose(20g/l) + dl-CYS(0,5g/l)+ oligo-éléments
5.- "S" + d-glucose (20 g/l) + GLY (0,5 g/l)	20.- "S" + d-glucose(20g/l) + l-MET(0,5g/l)+ oligo-éléments
6.- "S" + d-glucose (20 g/l) + l-TYR (0,5 g/l)	21.- "S" + d-glucose(20g/l) + l-TYR(0,6g/l) + dl-CYS(0,6g/l)
7.- "S" + d-glucose (20 g/l) + dl-TRY(0,5 g/l)	22.- "S" + d-glucose(20g/l) + l-TYR(0,6g/l) + GLY (0,6g/l)
8.- "S" + d-glucose (20 g/l) + dl-CYS(0,5 g/l)	23.- "S" + d-glucose(20g/l) + l-MET(0,6g/l) + GLY (0,6g/l)
9.- "S" + d-glucose (20 g/l) + l-MET (0,5 g/l)	24.- "S" + d-glucose(20g/l) + dl-TRY(0,6g/l) + dl-CYS(0,6g/l)
10.- "S" + d-glucose(20g/l)+GLY(0,5g/l) + dl-TRY (1g/l)	25.- "S" + d-glucose(20g/l) + dl-TRY(0,6g/l) + GLY(0,6g/l)
11.- "S" + d-glucose(20g/l)+GLY(0,5g/l) + dl-TRY (0,5 g/l)	26.- "S" + d-glucose(20g/l) + dl-CYS(0,6g/l) + GLY(0,6g/l)
12.- "S" + d-glucose(20g/l)+GLY(0,5g/l) + dl-TRY (0,1 g/l)	
13.- "S" + d-glucose(20g/l)+GLY(0,5g/l) + A.B.I.A.(0,0001g/l)	
14.- "S" + d-glucose(20g/l)+GLY(0,5g/l) + A.B.I.A.(0,01g/l)	
15.- "S" + d-glucose(20g/l)+GLY(0,5g/l) + A.B.I.A.(1g/l)	

Nous avons ensuite réalisé plusieurs séries d'essais afin de mettre au point un milieu synthétique de composition définie , permettant une croissance mycélienne , une sporulation et une formation du sclérote optimales chez les deux espèces ; le milieu CZAPECK , choisi comme milieu de base , a été additionné de l-tyrosine , de dl-tryptophane ou de dl-cystine . Nous avons d'abord étudié le rôle de chaque acide aminé à 4 concentrations différentes (0,9 g/l, 0,21 g/l , 0,43 g/l et 2,15 g/l) puis leur action combinée (l-tyrosine + dl-tryptophane , l-tyrosine + dl-cystine , dl-tryptophane + dl-cystine , l-tyrosine + dl-tryptophane + dl-cystine) ; dans ce dernier cas , chaque acide aminé est utilisé à la concentration de 0,43 g/l correspondant à 1% du poids total des composants du milieu .

c.-Milieu "S" et ses dérivés

Dans le but d'étudier l'action de quelques sources carbonées et azotées ainsi que celle de certains oligo-éléments , nous avons choisi un milieu synthétique de base plus riche que le milieu CZAPECK , le milieu "S" déjà mis au point pour étudier la physiologie du *Botrytis cinerea* (OLIVIER , AKHAVAN et BONDOUX , 39) :

- nitrate de sodium (NaNO_3)	0,6 g
- nitrate de potassium (KNO_3).....	0,2 g
- chlorure de potassium (KCl)	0,7 g
- sulfate de magnésium (SO_4Mg , $7\text{H}_2\text{O}$).....	0,25 g
- phosphate monosodique ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$, $7\text{H}_2\text{O}$).....	0,15 g
- chlorure de calcium (CaCl_2 , $2\text{H}_2\text{O}$).....	0,8 g
- eau distillée Q.S.P.....	1 000 ml

Le pH du milieu ajusté à 6,2 est voisin de celui de l'extrait de malt qui nous avait donné des résultats intéressants . Nous avons remarqué que des pH plus faibles (5,4) provoquaient la liquéfaction de la gélose avant la stérilisation à l'autoclave .

Nous avons ajouté au milieu "S" des sucres , des acides aminés , de l' A.B. I.A. et des oligo-éléments ; les différents milieux correspondants ont été numérotés de 1 à 26 (*Tableau III*) .

1.-Sources carbonées

Les sucres incorporés sont les suivants : d-glucose (20 g/l) , maltose , lactose et saccharose (38 g/l) , soit pour les 4 sucres le 1/9 de la molécule-gramme par litre . Dans tous les cas , le milieu est additionné de l-méthionine (0,5 g/l) .

2.-Sources azotées

Les cinq acides aminés suivants sont utilisés à la concentration de 0,5 g/l: glycine , l-tyrosine , dl-tryptophane , dl-cystine et l-méthionine ; rappelons certaines caractéristiques de ces acides aminés . La glycine peut servir de source d'azote dans la synthèse de certains acides aminés (amination et transamination) . La l-tyrosine est l'un des précurseurs des composés mélaniques et participe à leur formation par l'intermédiaire d'une tyrosinase dont la production a été mise en évidence chez le mycélium du *Monilia fructicola* (RICH et HORSFALL , 47) . Le dl-tryptophane est l'un des précurseurs de l'A.B.I.A. et joue un rôle important dans les processus métaboliques des Champignons . La dl-cystine , acide aminé contenant du soufre , participe à la formation du phosphate de pyridoxal , dérivé de la vitamine B₆ (il sert de coenzyme dans la transamination) ; elle peut donc faciliter l'assimilation , par les Champignons , des autres acides aminés existant dans le milieu de culture . D'autre part , la dl-cystine est en général un agent réducteur capable d'inhiber la formation et l'activité des polyphénol-oxydases et par conséquent celles des quinones (GEIGER , 17) . La l-méthionine contient aussi du soufre ; son rôle complexe, important dans les processus métaboliques , n'est pas encore entièrement élucidé .

3.-A.B.I.A. et tryptophane

Le dl-tryptophane étant l'un des précurseurs de l'A.B.I.A. , il nous a semblé intéressant d'étudier parallèlement le rôle de ces deux composés sur le comportement physiologique des deux espèces du *Monilia* , aux concentrations suivantes :

tryptophane	A.B.I.A.
0,1 g/l	0,0001 ~~H~~ g/l
0,5 g/l	0,01 ~~H~~ g/l
1 g/l	1 ~~H~~ g/l

4.-Solution d'oligo-éléments

Nous avons étudié le rôle d'une solution d'oligo-éléments corrélativement à l'action des 5 acides aminés utilisés précédemment , leurs concentrations restant les mêmes ; cette solution , employée à la concentration de 1 ml/l de milieu , a la composition suivante :

- sulfate de manganèse (MnSO₄) 1 g/l
- sulfate de cuivre (CuSO₄) 1 g/l
- sulfate de zinc (ZnSO₄) 1 g/l
- borate de sodium (Na₂B₄O₇·10 H₂O)..... 1 g/l

TABLEAU IV .-Influence de quelques milieux nutritifs sur le comportement du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* .

Milieux de culture	Diamètre moyen (en mm) de la colonie mycélienne après 7 jours		Sporulation après 15 jours		Sclérote après 30 jours	
	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.
Pomme de terre glucosée	80	85	- généralisée - très dense	-généralisée -très dense	++++	+++
Pomme de terre non glucosée	70,6	75,3	-généralisée -peu dense	-généralisée -peu dense	nul	++
SABOURAUD	61,3	71,3	-généralisée -peu dense	-généralisée -peu dense	nul	++++
Extrait de malt à 2%	59	61	-généralisée -dense	-généralisée -très dense	+++	++
Extrait de malt à 5%	55	70	-généralisée -très dense	-généralisée -très dense	++++	+++
CZAPECK	30,6	33,6	-généralisée -dense	-peu abondante -limitée par zones	nul	+++

++ : pigment noir , extension limitée
 +++ : sclérote sur 1/3 (environ de la surface du milieu
 ++++ : sclérote formé sur 2/3 (environ) de la surface du milieu

Conditions expérimentales :
 t= 22 à 24°
 lumière : 8 h
 obscurité : 16 h

TABLEAU V. Influence des milieux nutritifs sur la formation du sclérote du *Monilia fructigena* et du *Monilia laccæ*.

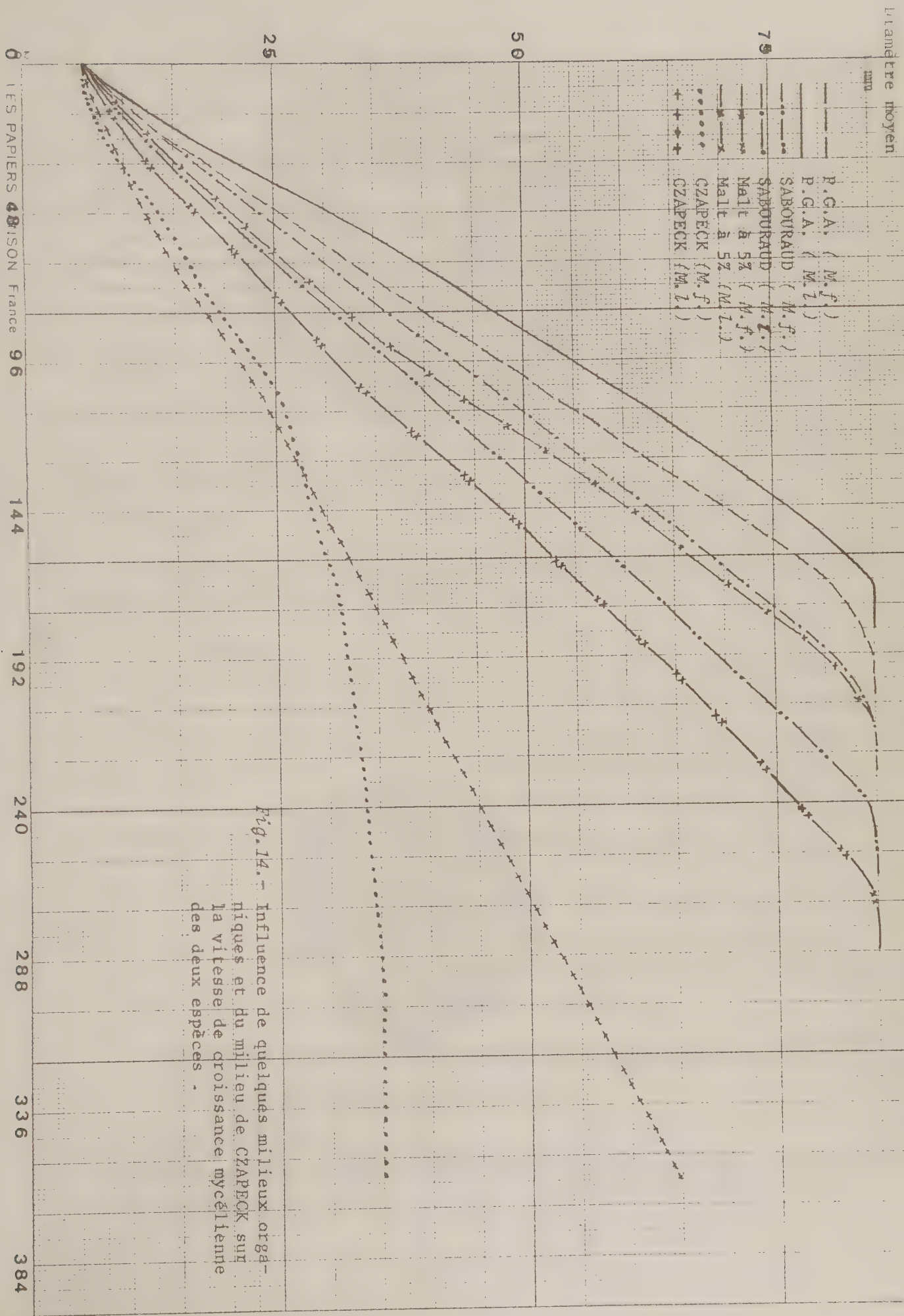
Période d'observation Conditions expérimentales	7 jours après l'ensemencement		au moment de l'envahissement complet du milieu		7 jours après l'envahissement complet du milieu		14 jours après l'envahissement complet du milieu	
	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.
Pomme de terre glucosee	+	-	+++	-	++++	-	++++ (1)	-
Pomme de terre non glucosee	-	-	-	-	-	-	-	-
SABOURAUD	-	+	-	+++	-	++++	-	++++ (2)
Extrait de malt à 2%	+	-	++	-	+++	-	++++ (3)	-
Extrait de malt à 5%	+	-	++	++	+++	+++	++++ (4)	++++ (5)
CZAPPEK	-	+	-	+++	-	+++	-	+++

- : pas de pigmentation
+ : pigment brun clair
++ : pigment brun foncé
+++ : sclérote non mature
++++ : sclérote mature

(1) : sclérote abondant
(2) : sclérote très abondant
(3) : sclérote peu abondant
(4) : sclérote assez abondant
(5) : sclérote peu abondant

Conditions expérimentales :

t = 22 à 24°
humidité : 8 h
obscurité : 16 h



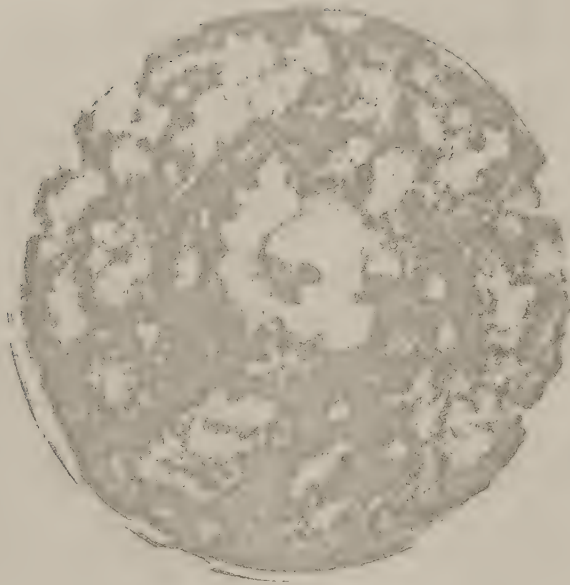


Fig.15.-Monilia laxa .- Individualisation des sclérotés, face supérieure de la culture (milieu SABOURAUD). (x 1)

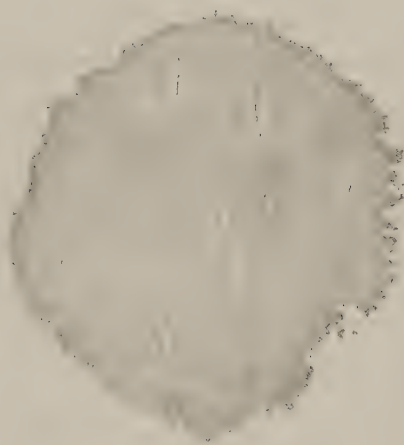


Fig.16.-Monilia laxa .- Formation des sclérotés: zonation et pigmentation; face inférieure de la culture (milieu CZAPECK). (x 1)

5.-Combinaisons de deux acides aminés

Dans les différentes combinaisons suivantes , chaque acide aminé est utilisé à la concentration de 0,6 g/l :

- | | |
|---------------------------|-------------------------------|
| - l-tyrosine + dl-cystine | - dl-tryptophane + dl-cystine |
| - l-tyrosine + glycine | - dl-tryptophane + glycine |
| -l-méthionine + glycine | - dl-cystine + glycine |

Au cours de tous les essais , le d-glucose est utilisé comme source carbonée à la concentration de 20 g/l .

2.-Eclairement-Température

Les cultures réalisées sur les milieux à base d'extrait de Pomme de terre ou de malt , sur les milieux SABOURAUD ou CZAPECK sont exposées à un éclairage quotidien de 8 heures , celles effectuées sur le milieu "S" et ses dérivés à la lumière continue ou à l'obscurité . Dans tous les cas , la température varie entre 23 et 26° .

B.-RESULTATS

1.-Variations observées sur les milieux organiques et le milieu CZAPECK (Tableau IV et V, p.41 et 42; fig.14 , p.43)

- Monilia fructigena

La diminution de la sporulation est très nette en l'absence de glucose (Pomme de terre simple) ; de plus , si le filtrat de Pomme de terre employé est pauvre en substances de réserve ou s'il est très dilué , non seulement il n'y a pas de sporulation , mais le mycélium devient rampant et il n'y a pas de formation pigmentaire (absence de sclérote). Les milieux SABOURAUD et CZAPECK sont aussi défavorables à la formation du sclérote .

- Monilia laxa

Sur le milieu de Pomme de terre glucosée (P.G.A.) et sur les milieux à base d'extrait de malt , la formation du sclérote est moins fréquente que pour le *Monilia fructigena* ; elle est par contre beaucoup plus fréquente sur les milieux SABOURAUD (fig.15) et CZAPECK (fig.16).

2.-Variations observées en fonction des différents milieux synthétiques

a.-Milieux dérivés de celui de CZAPECK

- Monilia fructigena

La l-tyrosine , le dl-tryptophane et la dl-cystine , aux concentrations optimales respectives de 2,15 g/l , 0,21 g/l et 0,43 g/l , ainsi que leurs

T A B L E A U VI.-Influence de la l-tyrosine sur la formation du sclérote du *Monilia fructigena* et du *Monilia lacc*

Période d'ob- servation Pour- centage d'acides aminés	7 jours après l'ensemencement		au moment de l'envahissement complet du mi- lieu		7 jours après l'envahissement complet du mi- lieu		14 jours après l'envahissement complet du mi- lieu	
	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.
témoïn	-	+	-	+++	-	+++	-	+++
0,09 g/l	-	-	-	+	-	++	-	+++
0,21 g/l	-	-	-	+	+	++	+	+++
0,43 g/l	-	-	+	++	+	+++	++	++++ (1)
2,15 g/l	+	-	++	++	++	++++	+++	++++ (2)

- : pas de pigmentation
+ : pigment brun clair
++ : pigment brun foncé
+++ : sclérote non mature
++++ : sclérote mature

(1) : sclérote assez abondant
(2) : sclérote abondant

Conditions expérimentales :

t = 24 à 26°
lumière : 8 h
obscurité : 16 h

Milieu de culture :

milieu CZAPECK additionné de
l-tyrosine

T ABLEAU VII .-Influence du dl-tryptophane sur la formation du sclérote du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa*

Période d'observation Pourcentage d'acide amine	7 jours après l'ensemencement		au moment de l'envahissement complet du mi- lieu		7 jours après l'envahissement complet du mi- lieu		14 jours après l'envahissement complet du mi- lieu	
	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.	M.f.	M.l.
témoin	-	+	-	+++	-	+++	-	+++
0,09 g/l	-	-	+	+	+	+	+	++
0,21 g/l	-	+	+	++	+	++	++	+++
0,43 g/l	+	+	+	++	+	+++	+++	++++ (1)
2,15 g/l	+	+	++	++	++	+++	++++ (2)	++++ (3)

- : pas de pigmentation
+ : pigment brun clair
++ : pigment brun foncé
+++ : sclérote non mature
++++ : sclérote mature

(1) : sclérote peu abondant
(2) : sclérote assez abondant
(3) : sclérote assez abondant

Conditions expérimentales :

t = 24 à 26°
lumière : 8 h
obscurité : 16 h

Milieu de culture :
milieu CZAPECK additionné de
dl-tryptophane

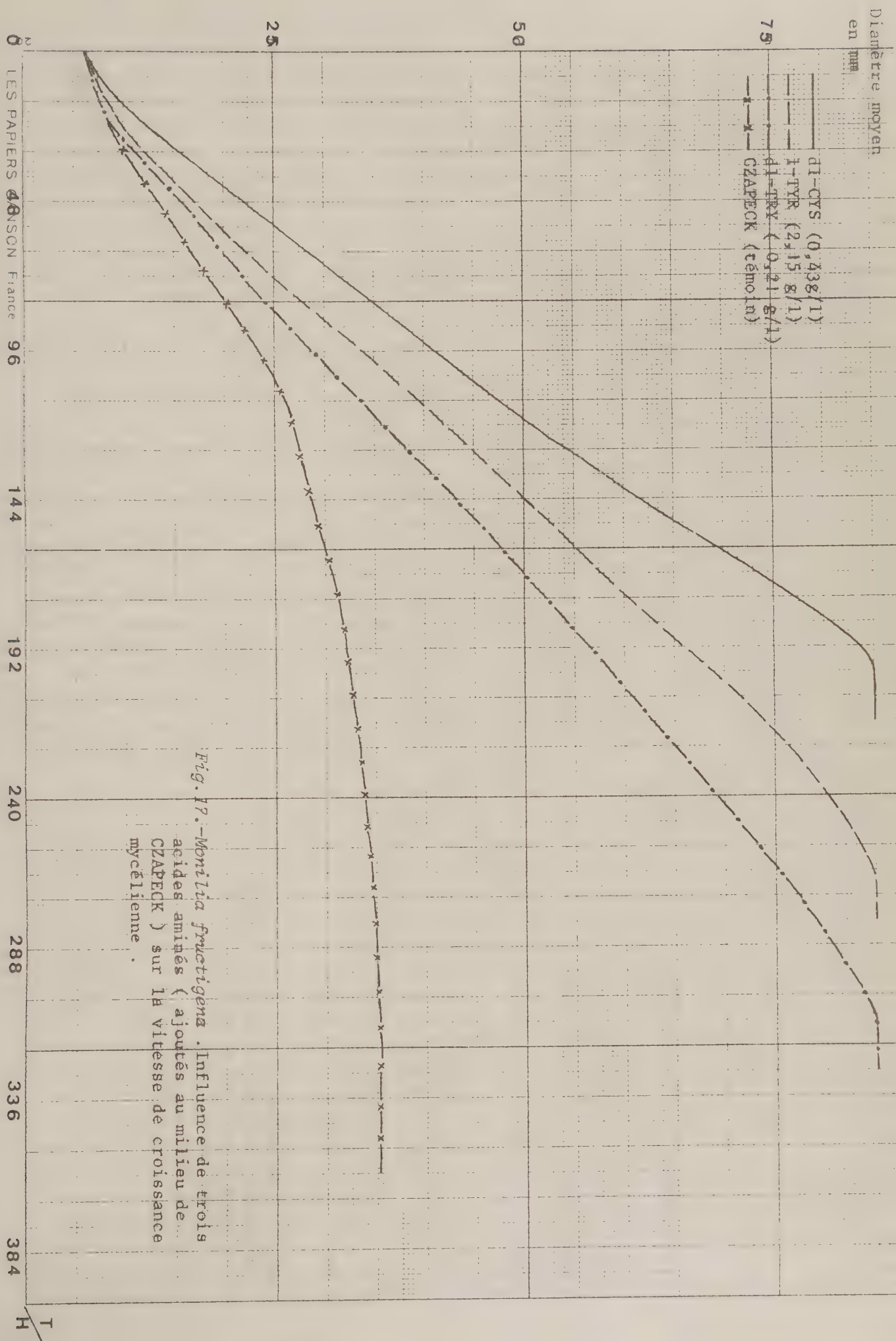


Fig. 17. - *Monilia fructigena*. Influence de trois acides aminés (ajoutés au milieu de CZAFECK) sur la vitesse de croissance mycélienne .

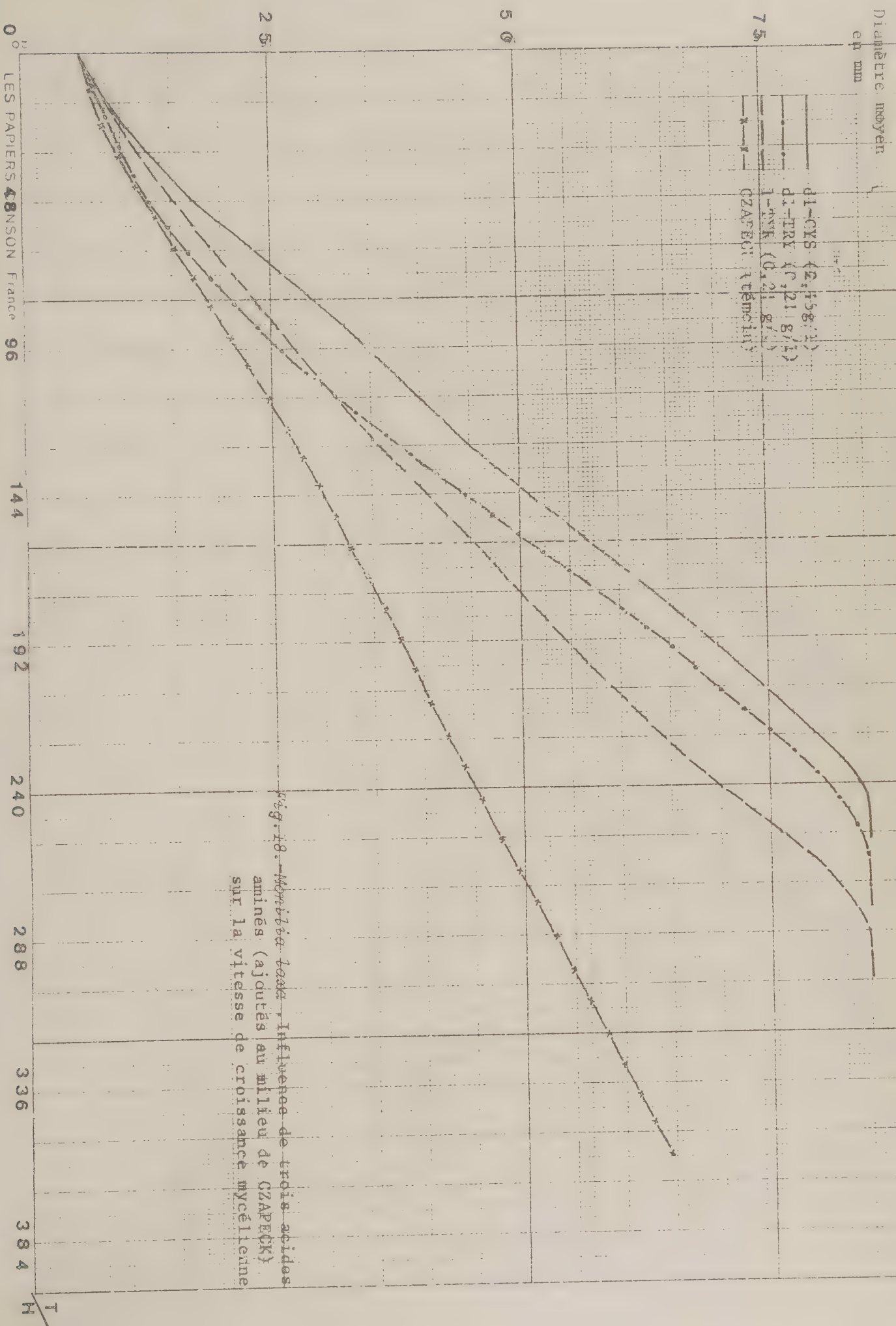


Fig. 48. *Moribla laxa*. Influence de trois acides aminés (ajoutés au milieu de CZAPECKI) sur la vitesse de croissance mycélienne

0 2 5 7.5
LES PAPIERS 48 N° 1 France 96

Diamètre moyen
en mm

—○— DL-CYS (2.158 g/l)
- -○- DL-TRP (0.218 g/l)
- -x- L-TRY (0.218 g/l)
—x— CZAPECKI (témoin)

T
H

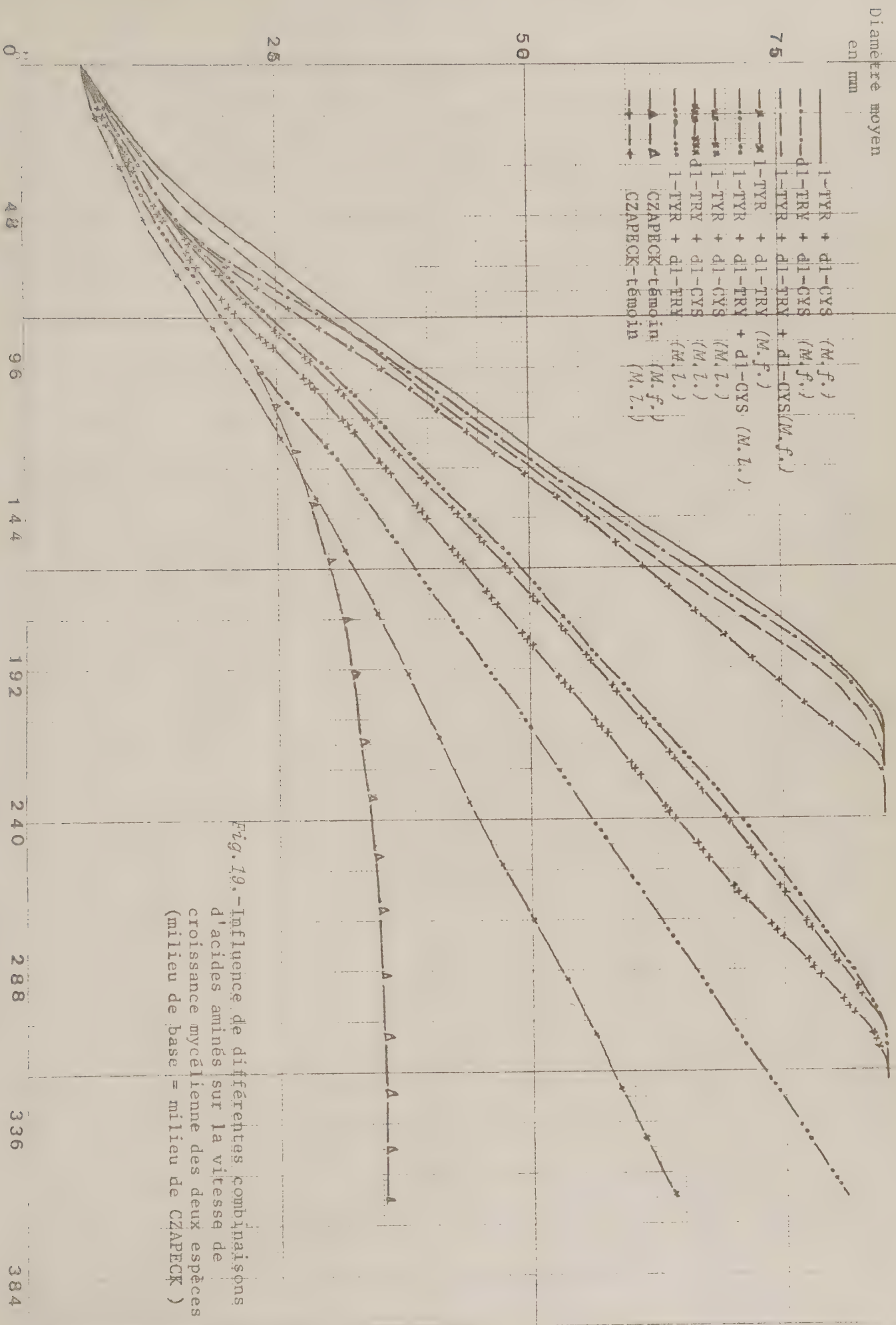


Fig. 19.-Influence de différentes combinaisons d'acides aminés sur la vitesse de croissance mycélienne des deux espèces (milieu de base = milieu de CZAPEK)

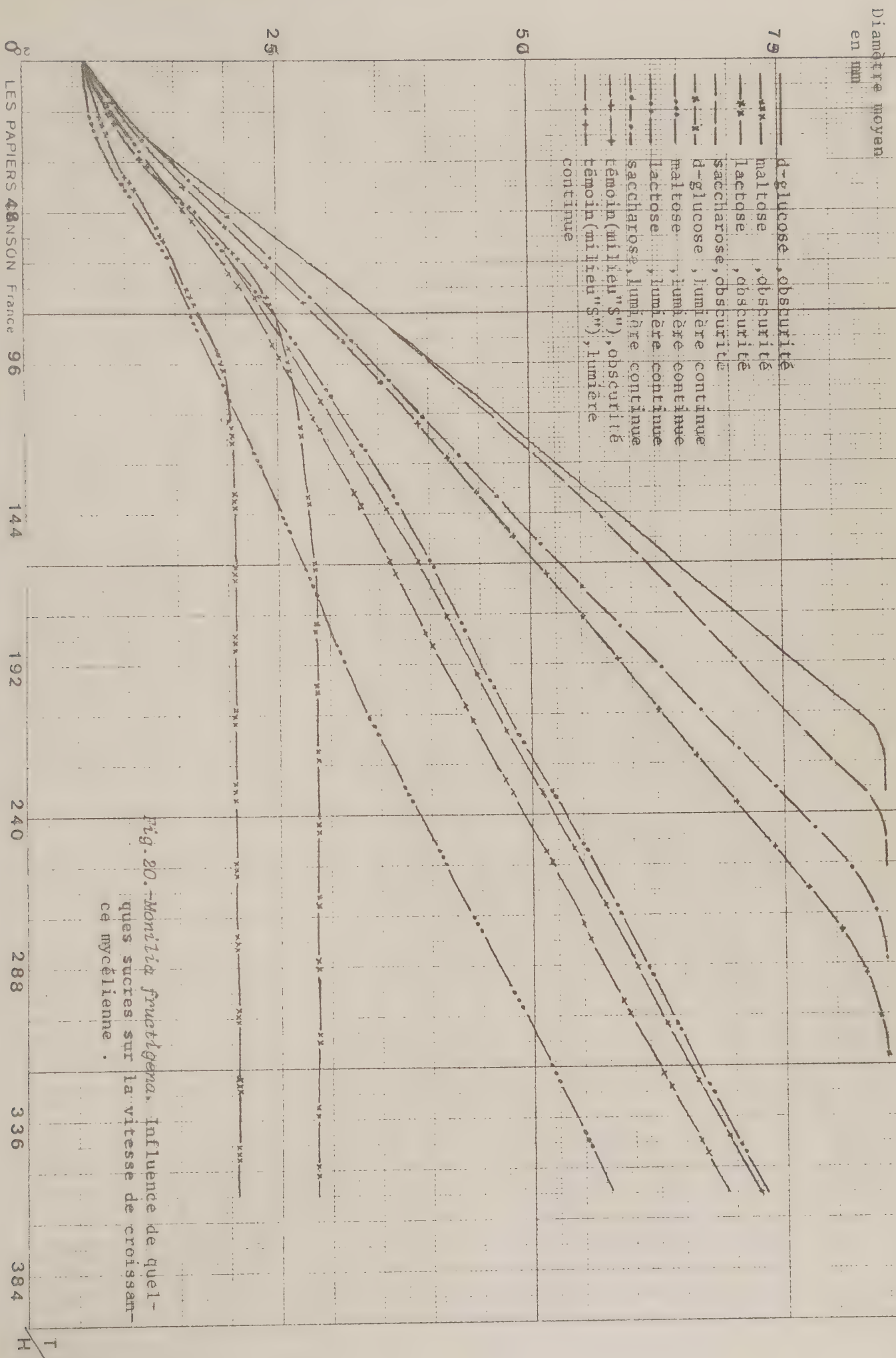
TAB LEAU VIII.- Influence de quelques sources carbonées sur la biologie du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa*

Sources carbonées	Diamètre moyen (en mm) de la colonie mycélienne après 7 jours				Sporulation après 15 jours						Sclérote après 30 jours			
	M.f.		M.l.		lum.		M.f.		M.l.		M.f.		M.l.	
	lum.	obsc.	lum.	obsc.			obsc.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.
d-glucose	52,3	67,3	52	52,3	-généralisée -peu dense		nulle		-généralisée -dense	nulle	nul	+	nul	++
maltose	28	21,3	33,3	28,6	nulle		nulle		-généralisée -assez dense	nulle	nul	++	nul	+
lactose	41,3	28,3	48,6	38	-peu abondante -irrégulière		nulle		-généralisée -assez dense	nulle	nul	+	nul	nul
saccharose	55,3	62,6	51,3	52,3	-généralisée -peu dense		nulle		-généralisée -assez dense	nulle	nul	+	nul	++

++ : pigment noir , extension limitée
+++ : sclérotas sur 1/3 (environ) de la surface du milieu

Milieu de culture :
milieu "S" additionné de l-méthionine et diverses sources carbonées

Conditions expérimentales :
t = 25°
lumière continue(lum.)
obscurité (obsc.)



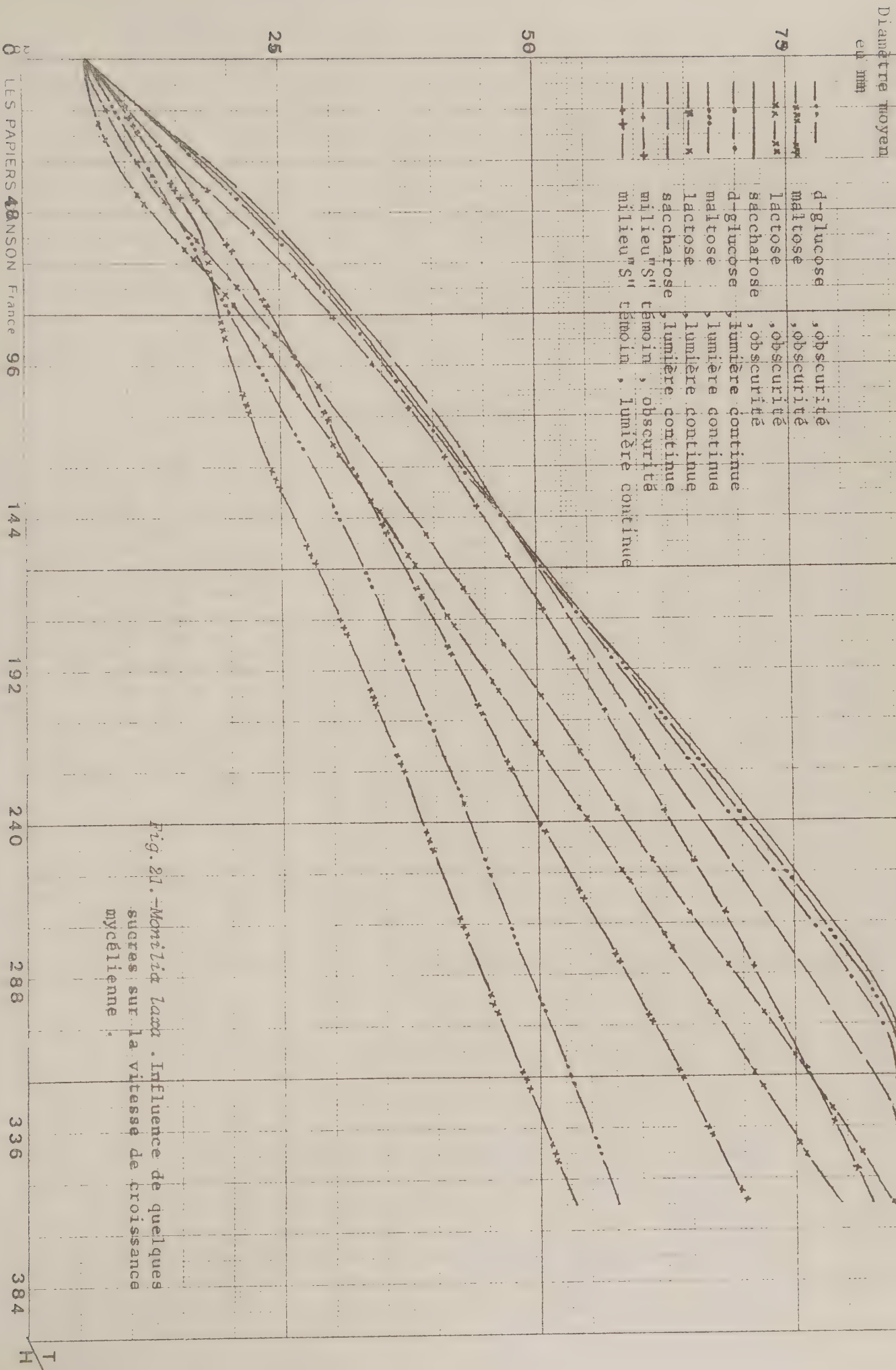


Fig. 21. - *Monilia laxa*. Influence de quelques sucres sur la vitesse de croissance mycélienne.

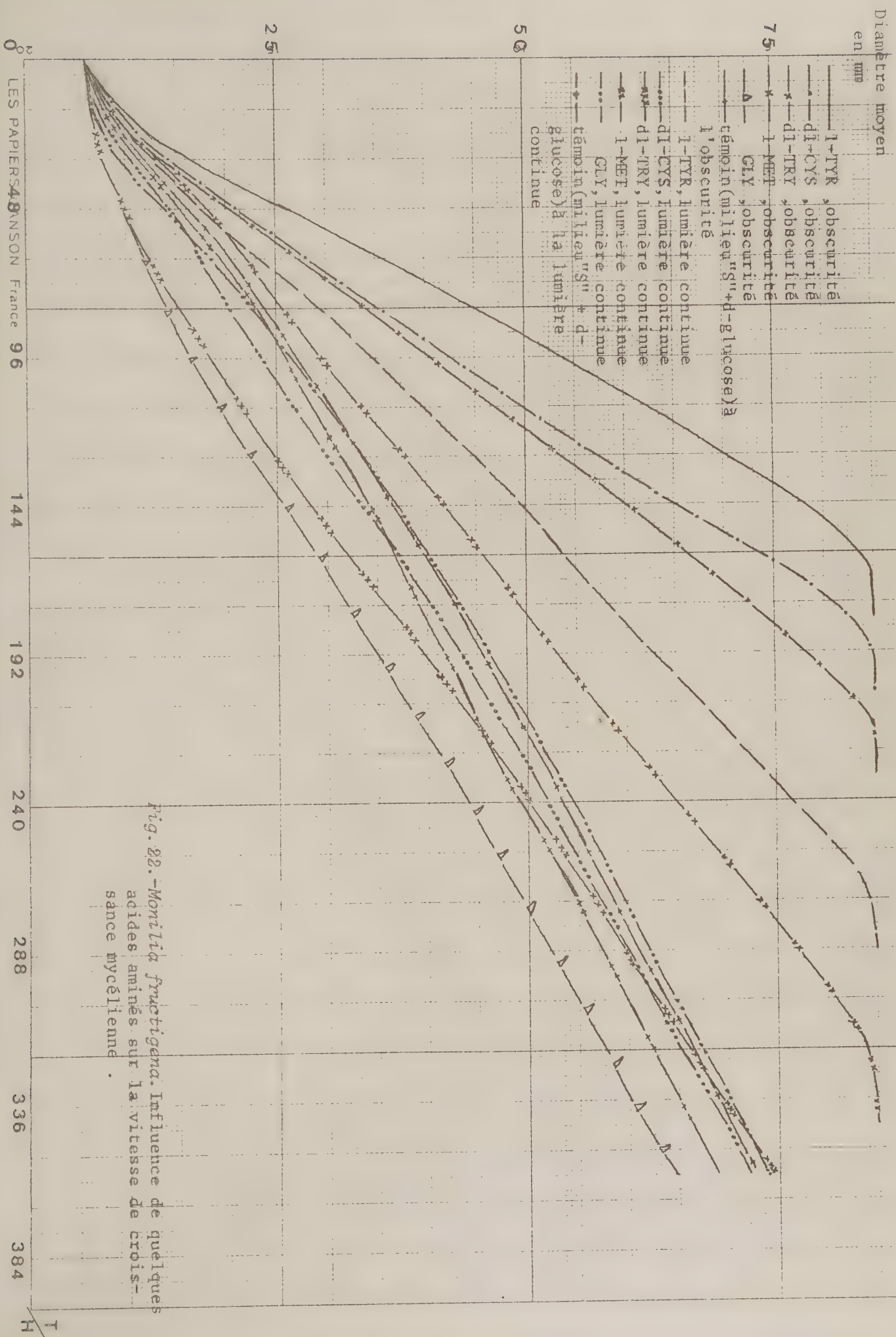
T ABLEAU IX,.-Influence de quelques acides aminés sur la biologie du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa*

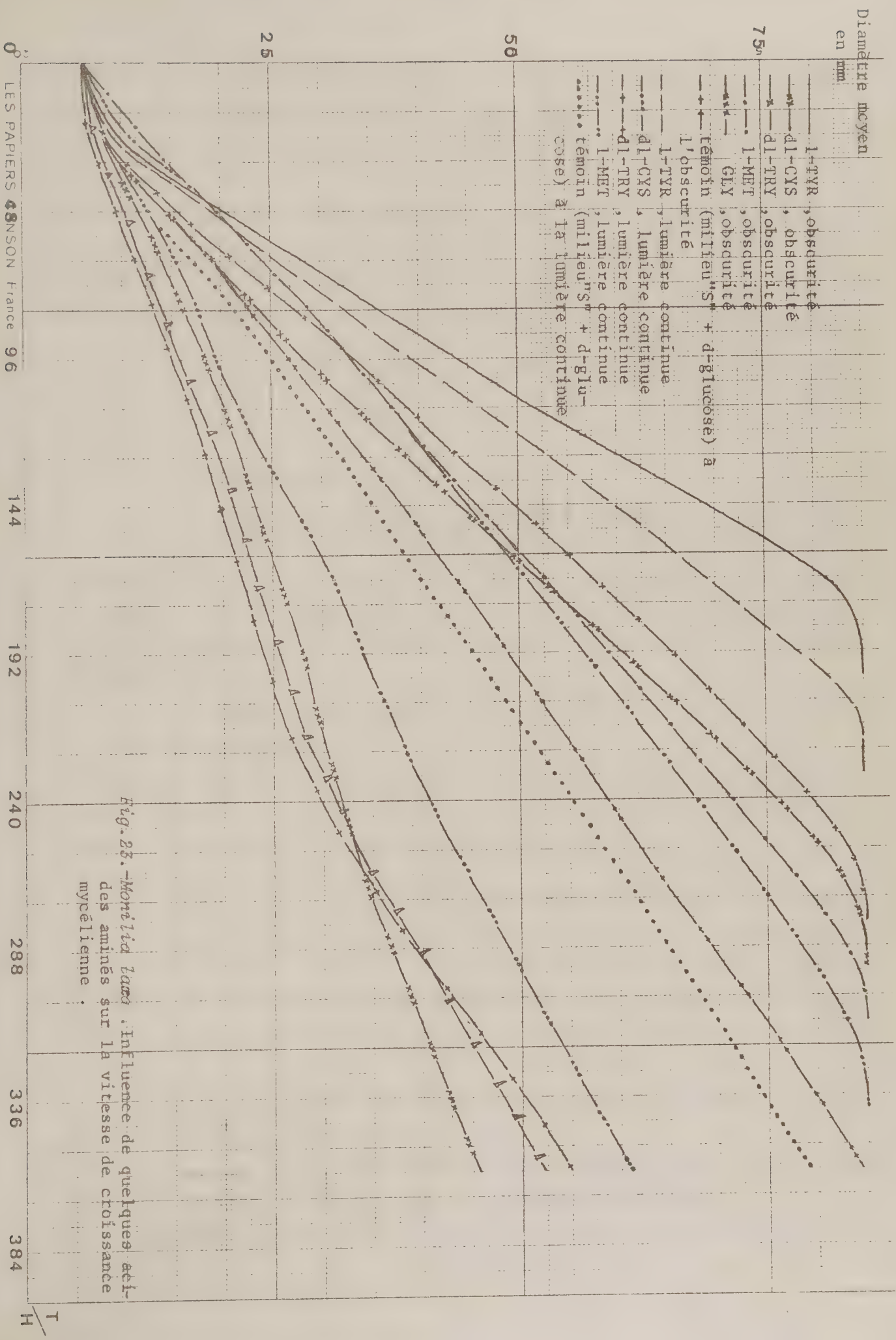
Acides aminés	Diamètre moyen (en mm) de la colonie mycélienne après 7 jours				Sporulation après 15 jours				Sclérote après 30 jours			
	M.f.		M.l.		M.f.		M.l.		M.f.		M.l.	
	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.
GLY	34,6	30,6	23,3	25,6	-généralisée-dense	nulle	-généralisée-peu dense	nulle	nul	nul	++	++
l-TYR	56	85	69	81,3	-généralisée-très dense	nulle	-généralisée-assez dense	nulle	nul	+	nul	+
dl-TRY	47,3	69,3	21,6	57,3	-généralisée-assez dense	nulle	-généralisée-peu dense	nulle	+	++	+	++
dl-CYS	39,3	78	31,6	52,6	-peu abondante	nulle	-généralisée-peu dense	nulle	nul	+	nul	+
l-MET	47,3	69,6	50	52,3	-généralisée-dense	nulle	-généralisée-dense	nulle	nul	nul	nul	nul

+ : pigment brun
++ : pigment noir , extension limitée

Conditions expérimentales : $t = 23$ à 26°
lumière continue (lum.)
obscurité (obsc.)

Milieu de culture : milieu "S" additionné de d-glucose et de différents acides aminés





différentes combinaisons stimulent très nettement la vitesse de croissance du mycélium (*fig. 17 et 19*, p.48 et 50); les deux premiers seuls influent sur les processus de la formation du sclérote (*Tableaux VI et VII*, p.46 et 47) .

- *Monilia laxa*

La stimulation de la croissance mycélienne , moins importante que chez le *Monilia fructigena* est optimale aux concentrations de 0,21 g/l pour le dl-tryptophane et la l-tyrosine , de 2,15 g/l pour la dl-cystine (*fig. 18*, p.49); en ce qui concerne les différentes combinaisons (*fig. 19*, p.50) , leur action est également moins prononcée que chez le *Monilia fructigena* . D'autre part , la l-tyrosine et le dl-tryptophane ont un effet encore plus accentué sur la formation du sclérote que chez le *Monilia fructigena* (*Tableaux VI et VII*, p.46 et 47) .

b.-Milieux dérivés du milieu "S"

1.-Action de différentes sources carbonées (*Tableau VIII*, p.51)

Le d-glucose (20 g/l) et le saccharose (38 g/l) sont les sucres qui favorisent le mieux la croissance mycélienne , la sporulation et la formation du sclérote chez les deux espèces (*fig. 20 et 21* , p.52 et 53) ; nous avons cependant remarqué l'action favorable de tous les sucres sur la sporulation du *Monilia laxa* .

2.-Action des acides aminés (*Tableau IX*, p.54)

- *Monilia fructigena*

Parmi les 5 acides aminés utilisés , la l-tyrosine donne les meilleurs résultats du point de vue de la croissance mycélienne (à la lumière continue comme à l'obscurité) et de la sporulation (à la lumière) .

La formation du sclérote n'a jamais lieu à la lumière continue .

A l'obscurité , la vitesse de croissance mycélienne (*fig. 22* , p.55) est accrue d'une façon importante (sauf en présence de glycine) , mais la sporulation est toujours inhibée et le volume du mycélium érigé est très diminué ; un pigment se différencie à partir du 5ème jour sauf en présence de l-méthionine mais ce processus ne conduit pas à la formation du sclérote .

- *Monilia laxa*

La croissance du mycélium est optimale en présence de l-tyrosine à la lumière comme à l'obscurité (*fig. 23* , p.56) .

La l-méthionine est le seul acide aminé permettant à la fois une croissance mycélienne optimale et une sporulation relativement abondante .

A l'obscurité , on remarque une inhibition complète de la sporulation et

T A B L E A U X , -Influence du dl-tryptophane et de l'A.B.I.A. sur la biologie du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa*

Acides aminés	Diamètre moyen (en mm) de la colonie mycélienne après 7 jours				Sporulation après 15 jours				Sclérote après 30 jours			
	M.f.		M.l.		M.f.		M.l.		M.f.		M.l.	
	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.
dl-TRY (0,1g/l)	29,6	61	39	35,3	-généralisée -assez dense	nulle	-généralisée	nulle	nul	+++	+	++
dl-TRY (0,5g/l)	43,3	65,3	34,3	49,6	-généralisée -dense	nulle	-peu abondante -irrégulière	nulle	+	+++	++	++
dl-TRY (1 g/l)	45,3	65	31,3	47,3	-généralisée -peu abondante	nulle	-peu abondante -irrégulière	nulle	+	+	++	++
A.B.I.A. 0,0001 g/l	30,3	32,6	52,9	24	-généralisée -peu abondante	nulle	-généralisée -assez dense	nulle	nul	nul	++	++
A.B.I.A. 0,01 g/l	30,3	28,6	55,3	34,3	-généralisée -peu abondante	nulle	-généralisée -dense	nulle	nul	+	nul	++
A.B.I.A. 1 g/l	12	7,3	13,3	24	très peu abondante	nulle	nulle	nulle	nul	nul	+	+

+ : pigment brun

++ : pigment noir , extension limitée

+++ : sclérote formé sur 1/3 (environ) de la surface du milieu

Conditions expérimentales :

t = 23 à 26°

lumière continue (lum.)

obscurité (obsc.)

Milieu de culture :

milieu "S" additionné de d-glucose de dl-tryptophane ou d'A.B.I.A.

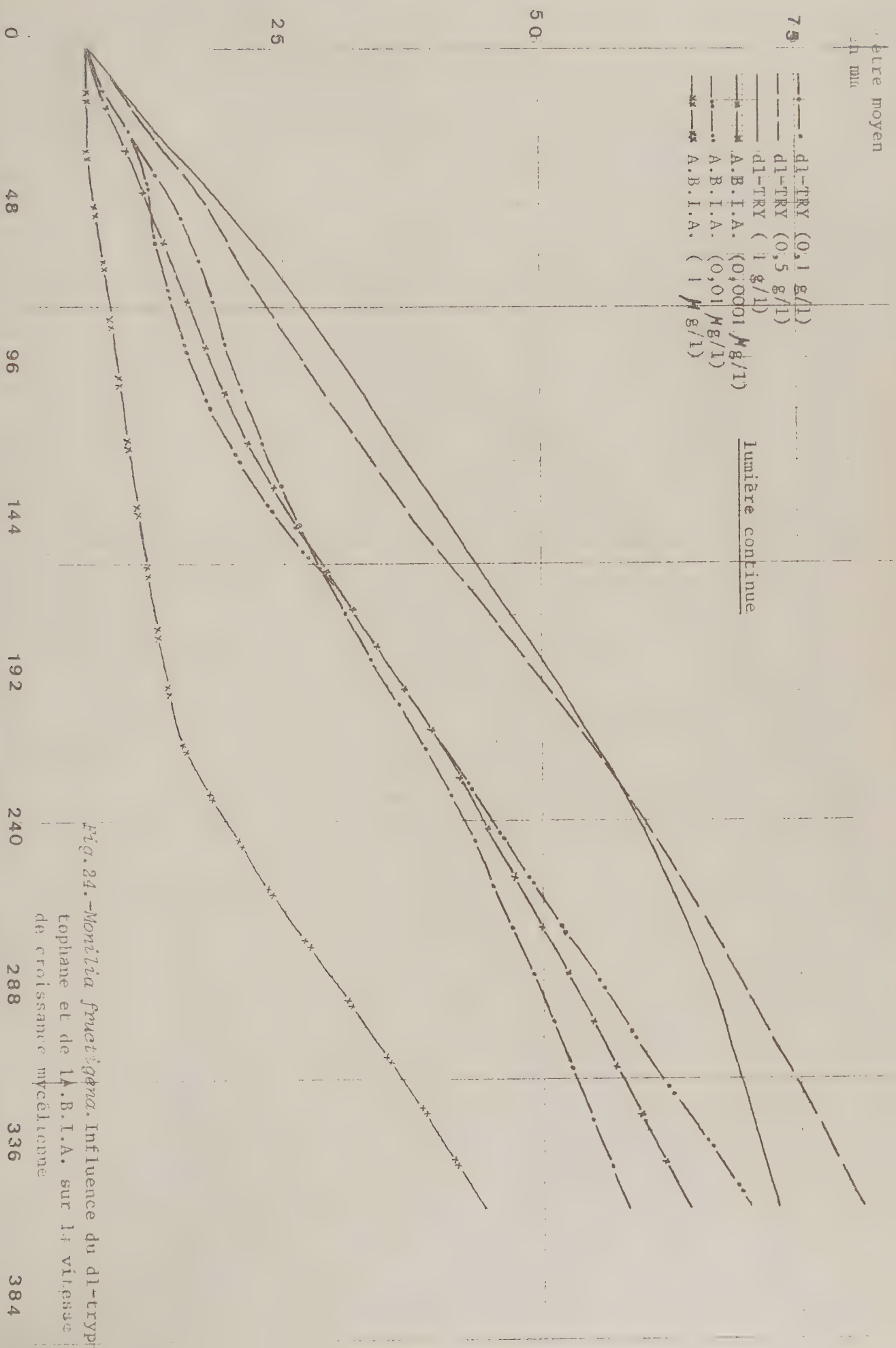


Fig. 24. - *Monilia fructigena*. Influence du dl-tryptophane et de l'A.B.I.A. sur la vitesse de croissance mycélienne

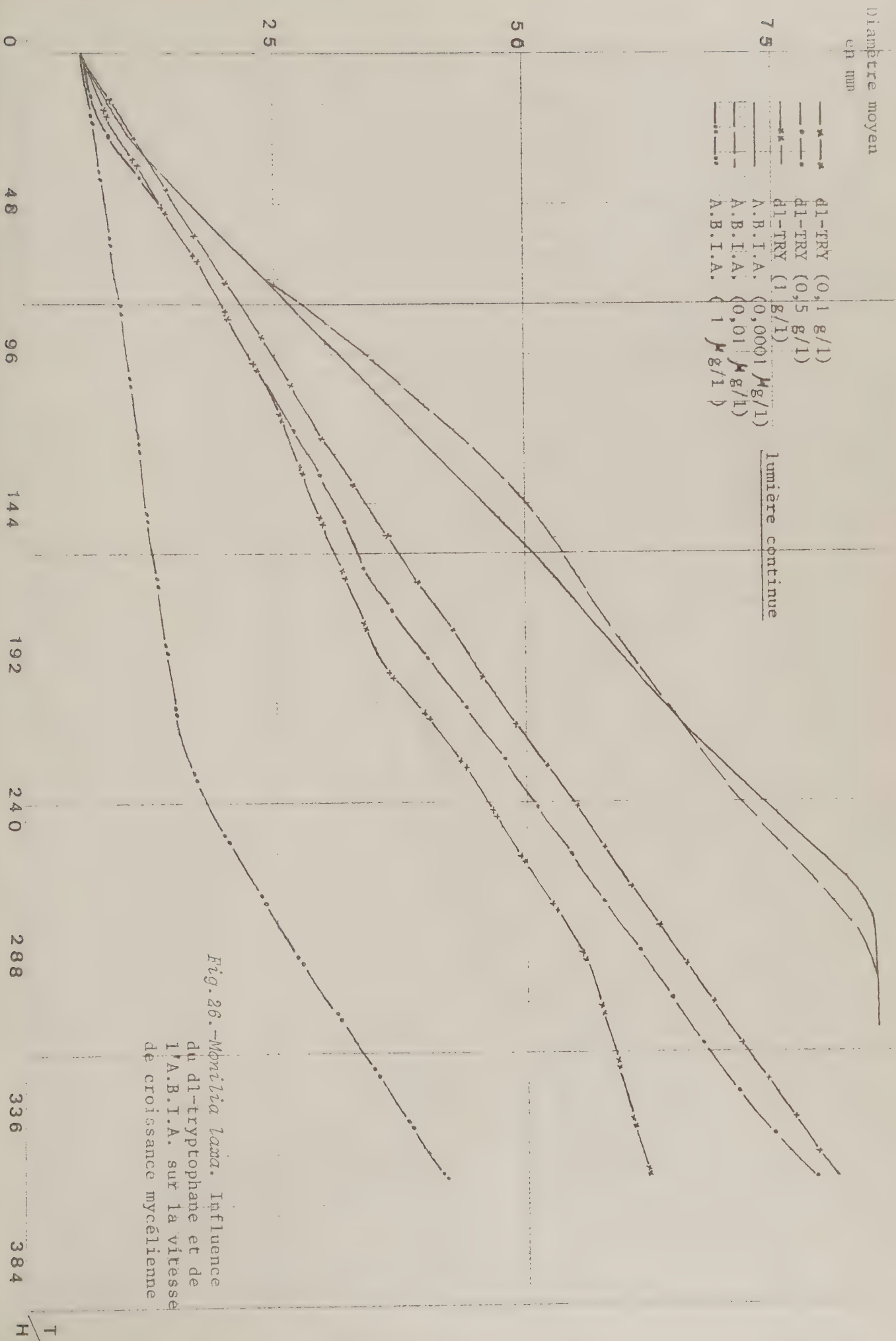
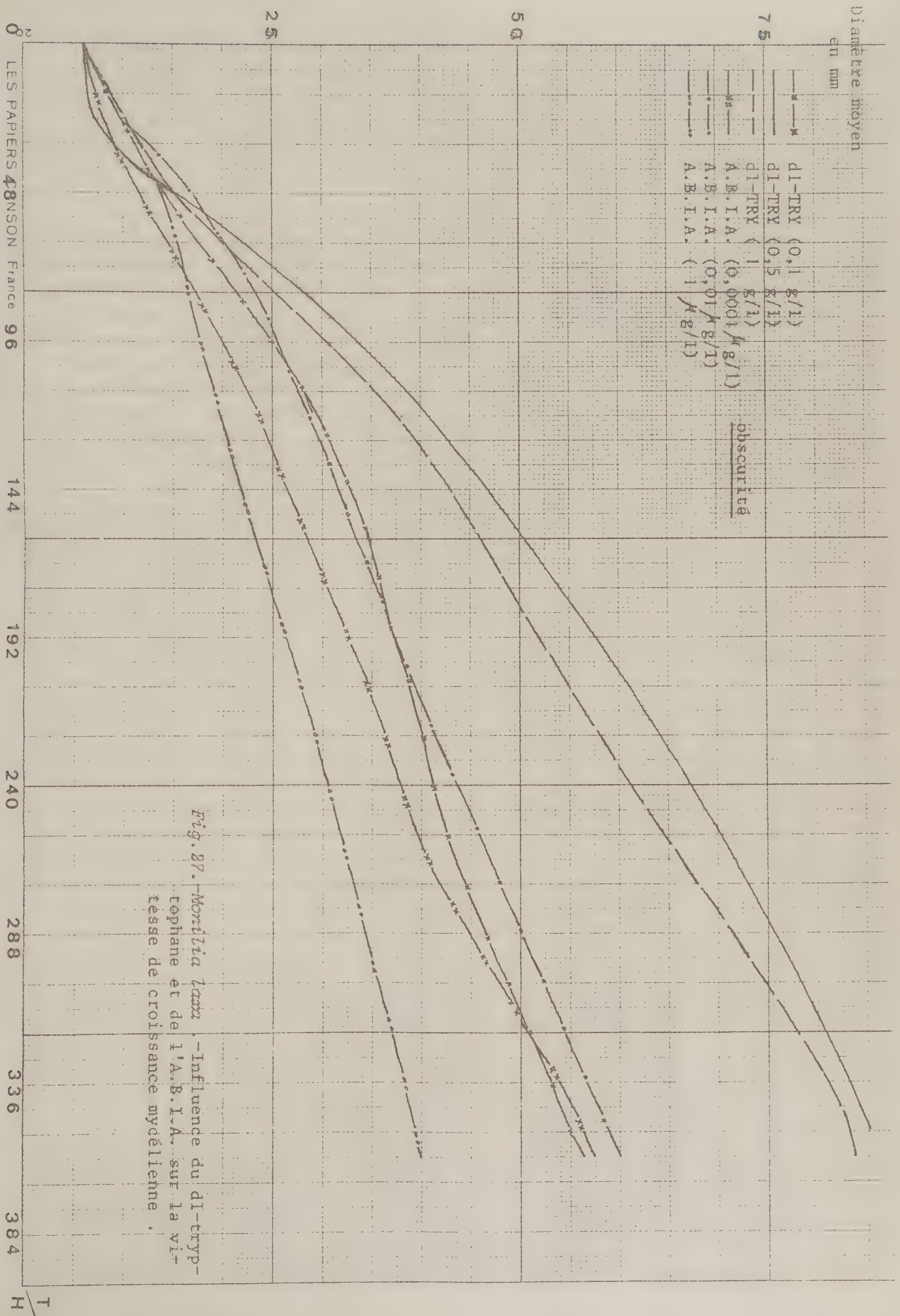
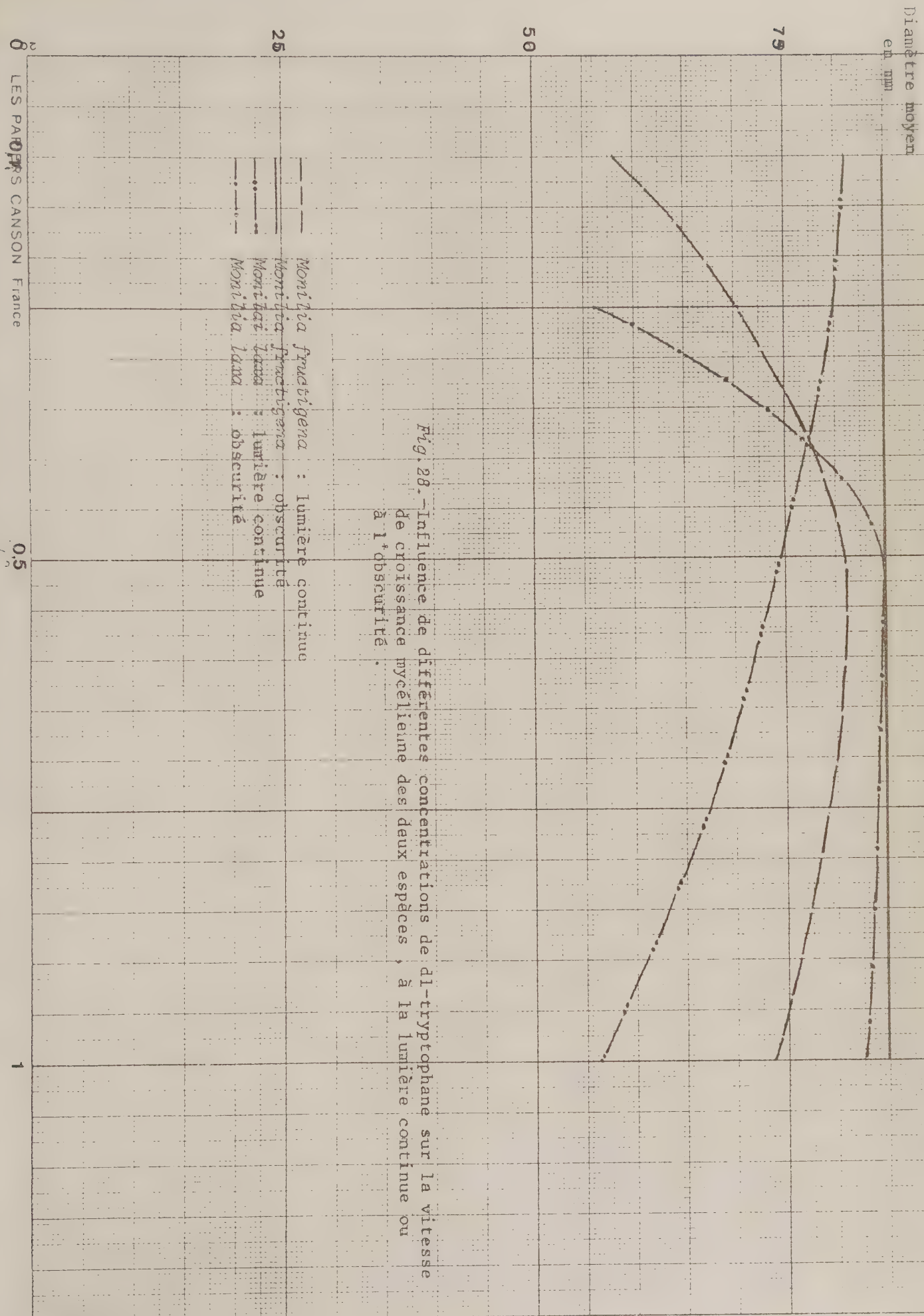


Fig. 36. - *Monilia laxa*. Influence du dl-tryptophane et de l'A.B.I.A. sur la vitesse de croissance mycélienne





(c) 9
1

Diamètre moyen
en mm

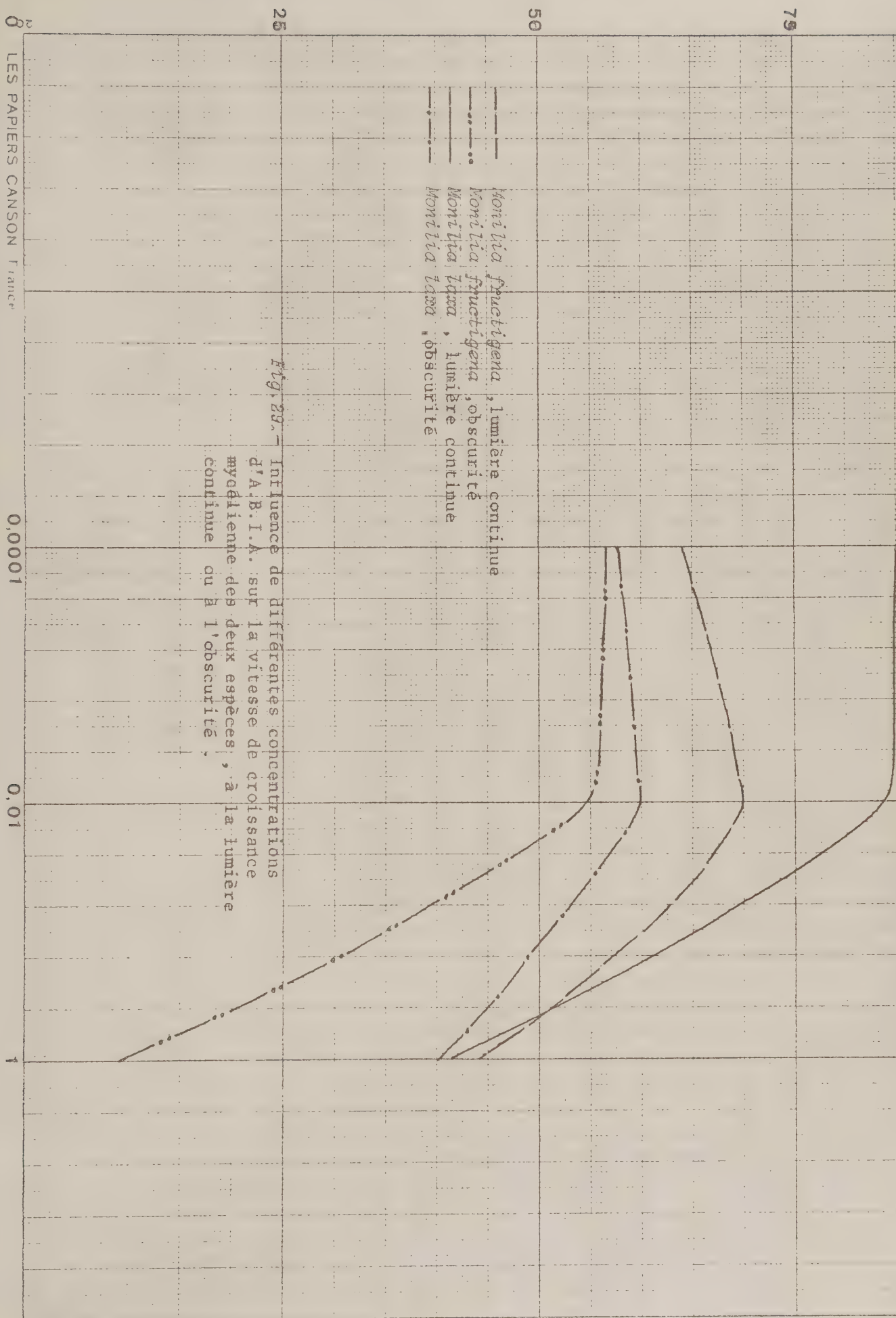


Fig. 23. - Influence de différentes concentrations d'A.B.I.A. sur la vitesse de croissance mycélienne des deux espèces, à la lumière continue ou à l'obscurité.

[c] 149

T A B L E A U XI.-Influence d'une solution d'oligo-éléments sur la biologie du *Monilia fructigena*
 en fonction des acides aminés utilisés

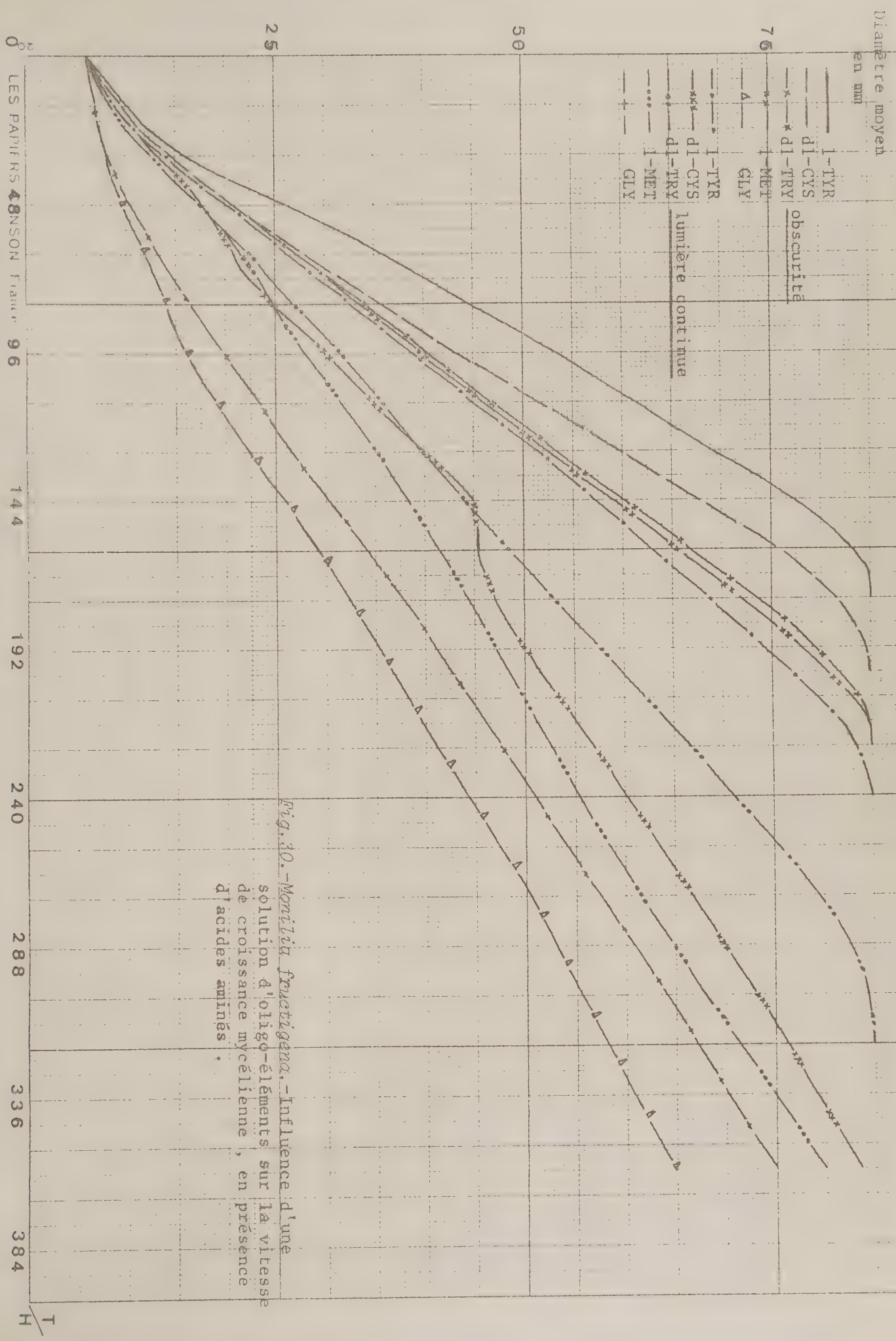
Acides aminés	Diamètre moyen (en mm) de la colo- nie mycélienne après 7 jours				Sporulation après 15 jours				Sclérote après 30 jours			
	témoin		oligo-éléments		témoin		oligo-éléments		témoin		oligo-éléments	
	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.
GLY	34,6	30,6	36	30,6	-généralisée -dense	nulle	-généralisée -dense	nulle	nul	nul	nul	nul
l-TYR	56	85	66	85	-généralisée -très dense	nulle	-généralisée -très dense	nulle	nul	+	nul	+
d1-TRY	42,3	69,3	51	70	-généralisée -assez dense	nulle	-généralisée -assez dense	nulle	nul	++	+	++
d1-CYS	39,3	78	46	79,3	peu abon- dante	nulle	assez abon- dante	nulle	nul	+	nul	+
l-MET	47,3	69,6	42,6	69,3	-généralisée -dense	nulle	-généralisée -dense	nulle	nul	nul	nul	nul

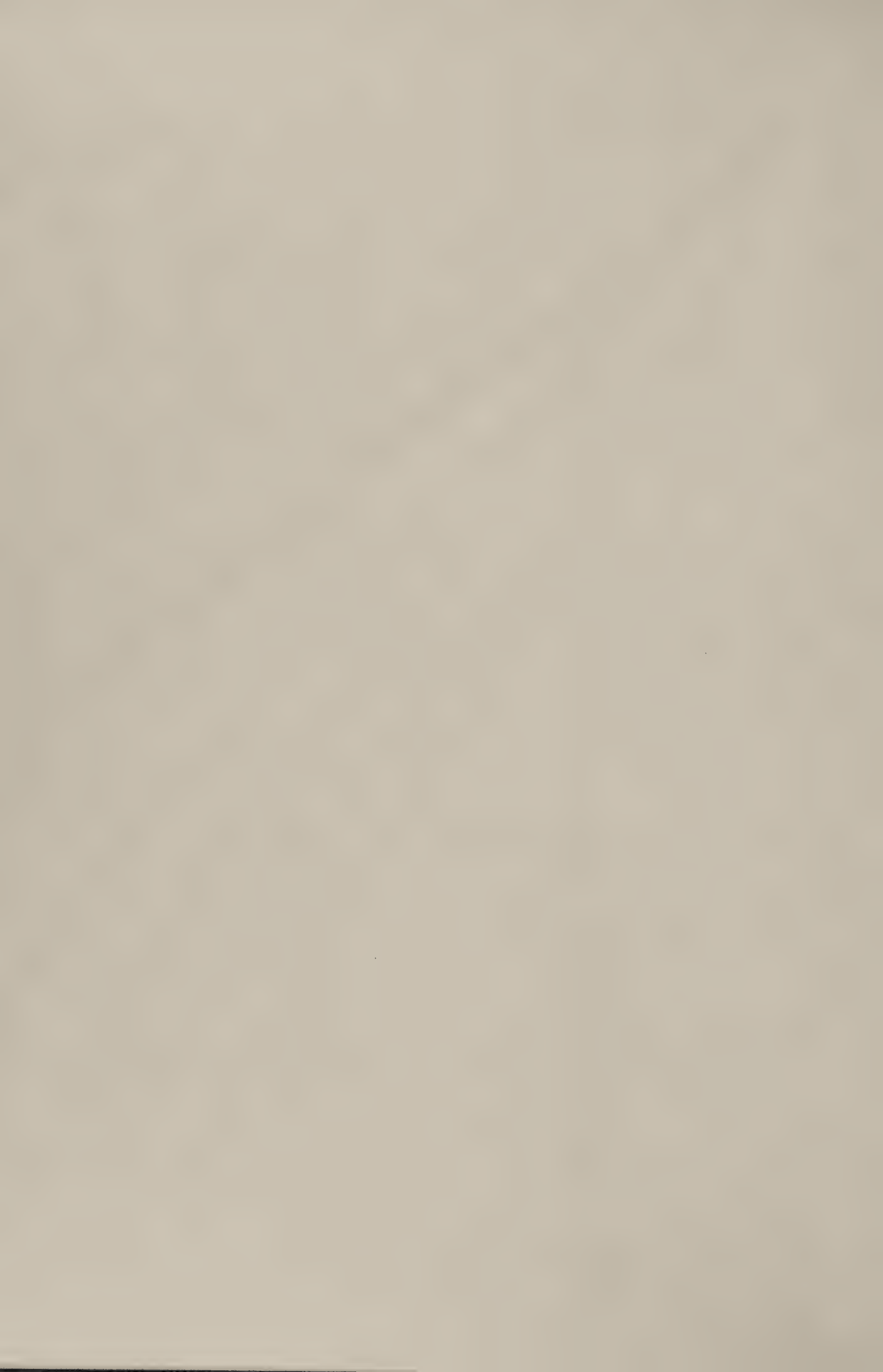
+ : pigment brun
 ++ : pigment noir , extension limitée

Conditions expérimentales :
 t = 23 à 26°
 lumière continue (lum.)
 obscurité (obsc.)

Milieu de culture :
 milieu "S" additionné de d-glucose







T A B L E A U X I I . - Influence d'une solution d'oligo-éléments sur la biologie du *Montilia laxa* en fonction des acides aminés utilisés .

Acides aminés	Diamètre moyen (en mm) de la colonie mycélienne après 7 jours				Sporulation après 15 jours				Sclérote après 30 jours			
	témoin		oligo-éléments		témoin		oligo-éléments		témoin		oligo-éléments	
	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.
GLY	23,3	25,6	18	18,3	-généralisée -peu dense	nulle	-généralisée -peu dense	nulle	++	++	+++	+++
l-TYR	69	81,3	67	74	-généralisée -assez dense	nulle	-généralisée -dense	nulle	nul	+	nul	+
dl-TRY	21,6	57,3	18,6	45,6	-généralisée -peu dense	nulle	-généralisée -peu dense	nulle	+	++	+	++
dl-CYS	31,6	52,6	40	63,6	-généralisée -peu dense	nulle	-généralisée -peu dense	nulle	nul	+	nul	+
l-MET	50	52,3	50,6	53,3	-généralisée -dense	nulle	-généralisée -dense	nulle	nul	nul	nul	nul

+ : pigment brun
++ : pigment noir , extension limitée
+++ : sclérote près de la maturité formé sur 1/4 de la surface du milieu

Milieu de culture :
milieu "S" additionné de d-glucose, d'acides aminés et d'oligo-éléments

Conditions expérimentales :
= 23 à 26°
lumière continue (lum.)
obscurité (obsc.)

diamètre moyen
en mm

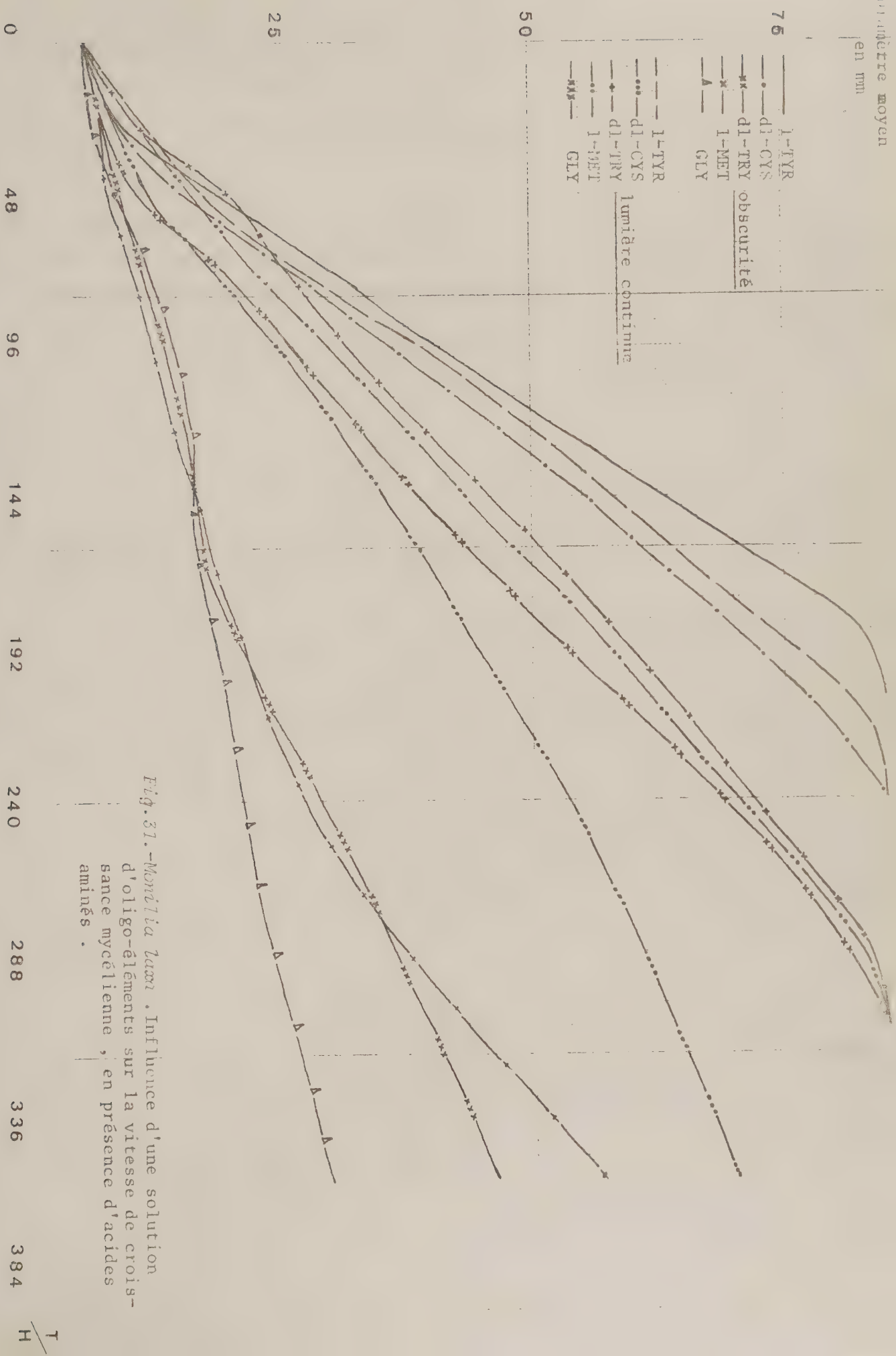


Fig. 31.-*Monilia laxa*. Influence d'une solution d'oligo-éléments sur la vitesse de croissance mycélienne, en présence d'acides aminés.

$\frac{T}{H}$

une stimulation de la vitesse de croissance particulièrement importante dans le cas du dl-tryptophane et de la dl-cystine .

3.-Action comparée du dl-tryptophane et de l'A.B.I.A. (Tableau X, p.58)

- *Monilia fructigena*

En lumière continue comme à l'obscurité , les concentrations de 0,5 g/l du dl-tryptophane et de 0,01 ~~g~~g/l de l'A.B.I.A. semblent donner les résultats les plus intéressants en ce qui concerne la vitesse de croissance mycélienne; les concentrations inférieures ralentissent la croissance , les concentrations supérieures provoquent une certaine inhibition (fig.24 et 25, p.59 et 60).

La sporulation est optimale en présence de dl-tryptophane à 0,5 g/l et à la lumière .

- *Monilia laxa*

A la lumière continue (fig.26 , p.61), les concentrations de 0,1 g/l de dl-tryptophane et de 0,0001 ~~g~~g/l d'A.B.I.A. donnent la meilleure croissance mycélienne . La sporulation est particulièrement abondante en présence d'A.B.I.A. à la concentration de 0,01 ~~g~~g/l .

A l'obscurité (fig.27, p.62), il y a un ralentissement marqué de la vitesse de croissance mycélienne en présence d'A.B.I.A. et une légère stimulation avec le dl-tryptophane ; la sporulation est toujours inhibée .

La vitesse de croissance mycélienne est représentée en fonction de 3 concentrations différentes des deux composés utilisés chez les deux espèces (fig.28 et 29 , p.63 et 64) .

4.-Action des oligo-éléments en fonction des acides aminés

- *Monilia fructigena* (Tableau XI ,p.65 , fig.22 p.55 et fig.30,p.66)

En lumière continue , les oligo-éléments stimulent la croissance du mycélium sauf en présence de l-méthionine ; par contre , ils n'ont aucune action à l'obscurité .

- *Monilia laxa* (Tableau XII,p.67 , fig.23,p.56 et fig.31, p.68)

En lumière continue , les oligo-éléments ne provoquent une stimulation de la croissance qu'en présence de dl-cystine ; avec la glycine et le dl-tryptophane , il y a un ralentissement de la croissance . En ce qui concerne la l-tyrosine et la l-méthionine , les oligo-éléments n'ont aucune action ; leurs effets sont plus accentués à l'obscurité .

T A B L E A U X I I I . -Influence de quelques combinaisons d'acides aminés sur la biologie du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa*

Acides aminés	Diamètre moyen (en mm) de la colonie mycélienne après 7 jours				Sporulation après 15 jours								Sclérote après 30 jours			
	M.f.		M.l.		M.f.		M.l.		M.f.		M.l.					
	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.	lum.	obsc.				
1-TYR+d1-CYS	46,3	56,3	40	40,6	-généralisée -peu dense	nulle	nulle	nulle	+	++	nul	nul				
1-TYR + GLY	48	50	24,3	26,3	-généralisée -dense	nulle	peu abon- dante	nulle	nul	+	++	++				
1-MET + GLY	56,6	59,3	44,6	42,6	-généralisée -dense	nulle	assez abon- dante	nulle	nul	nul	nul	+				
d1-TRY + d1-CYS	61,3	79	66	50,6	-généralisée -peu dense	nulle	peu abon- dante	nulle	+	++	+	nul				
d1-TRY+GLY	30,3	22	20,3	21,6	-généralisée -assez dense	nulle	peu abon- dante	nulle	++	+++	+	+++				
d1-CYS+GLY	48,6	50,6	21,6	17	-généralisée -dense	nulle	peu abon- dante	nulle	nul	nul	+	+				

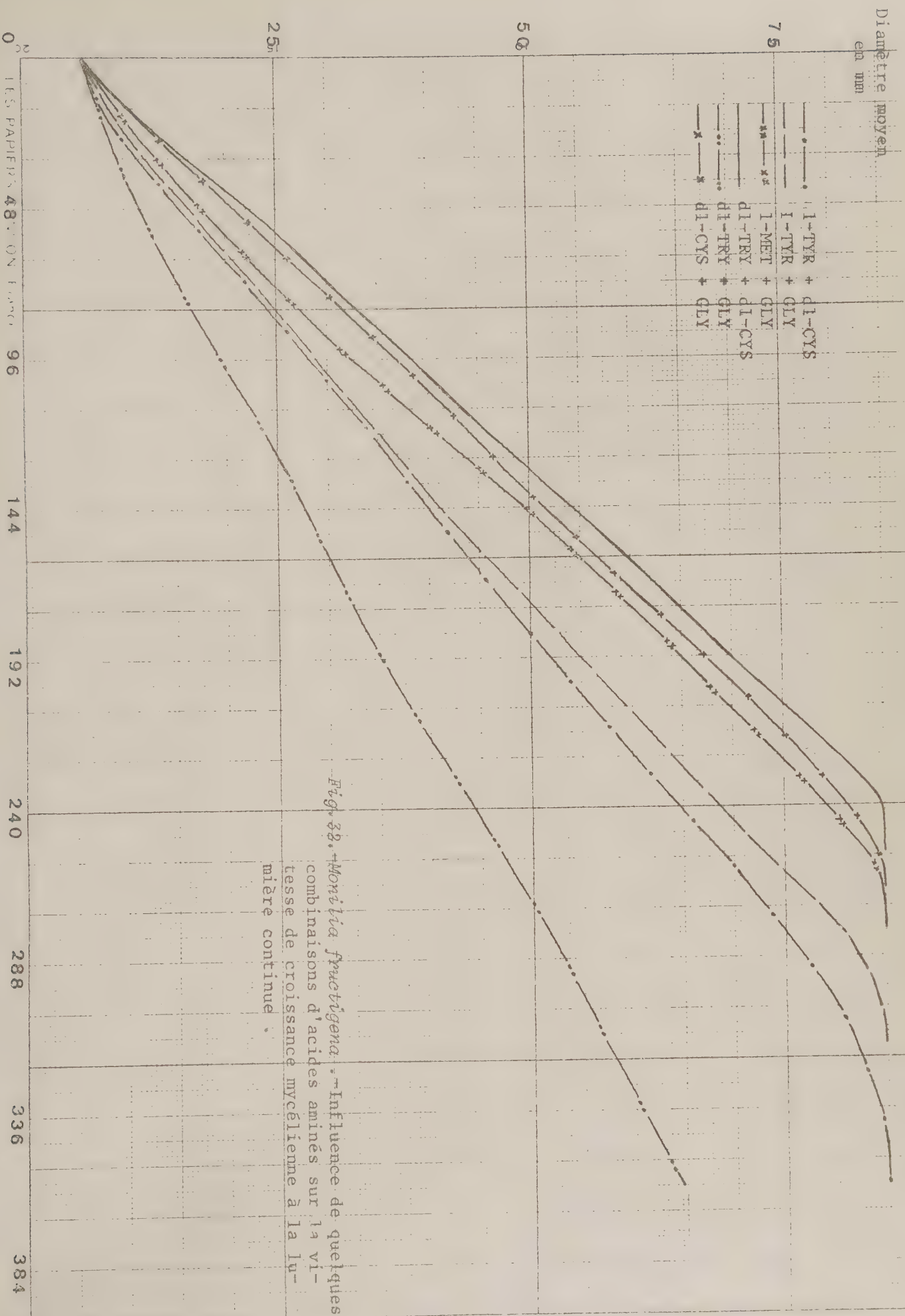
+ :pigment brun
++ :pigment noir,extension assez limitée
+++sclérote formé sur 1/3 (environ) de la surface du milieu

Conditions expérimentales:
Milieu de culture :

t = 23 à 26°
lumière continue (lum.)
obscurité (obsc.)

Milieu "S" additionné de diverses combinaisons d'acides aminés

Remarque : nous retiendrons la combinaison dl-tryptophane + glycine (dl-TRY + GLY) intéressante pour la morphogénèse du sclérote chez les deux espèces de *Monilia* .



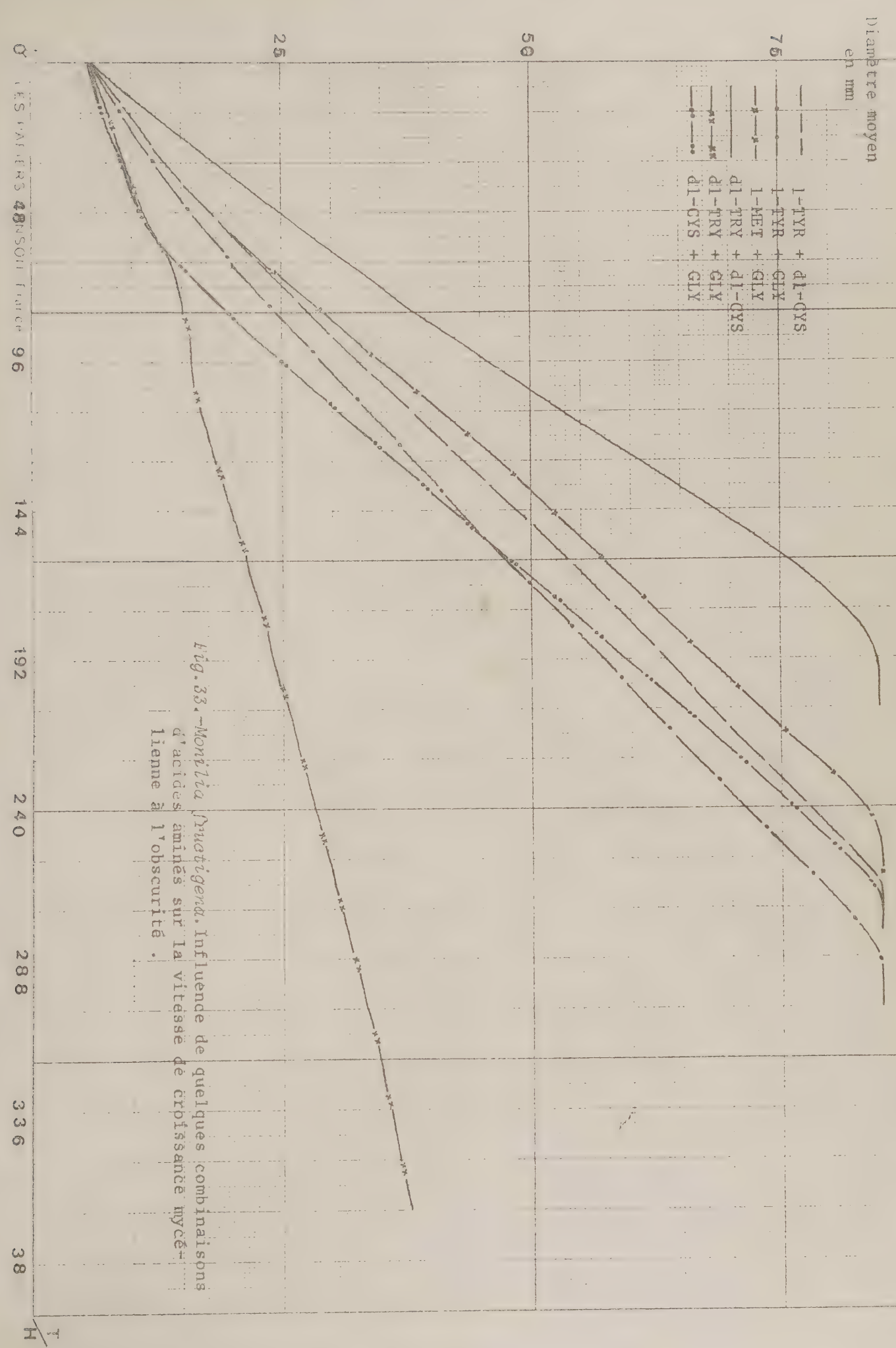
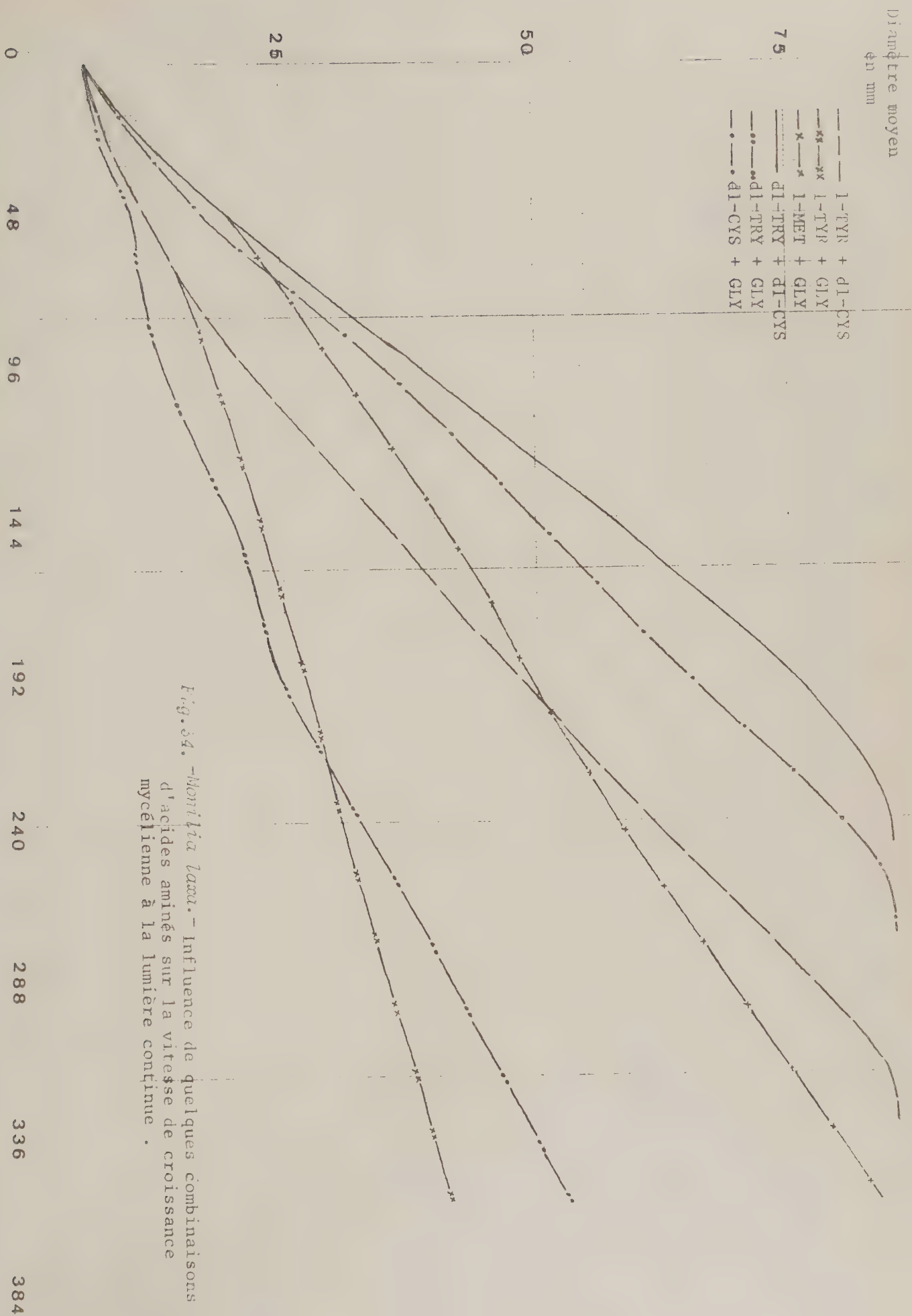


Fig. 33. - *Monilia fructigena*. Influence de quelques combinaisons d'acides aminés sur la vitesse de croissance mycélienne à l'obscurité.



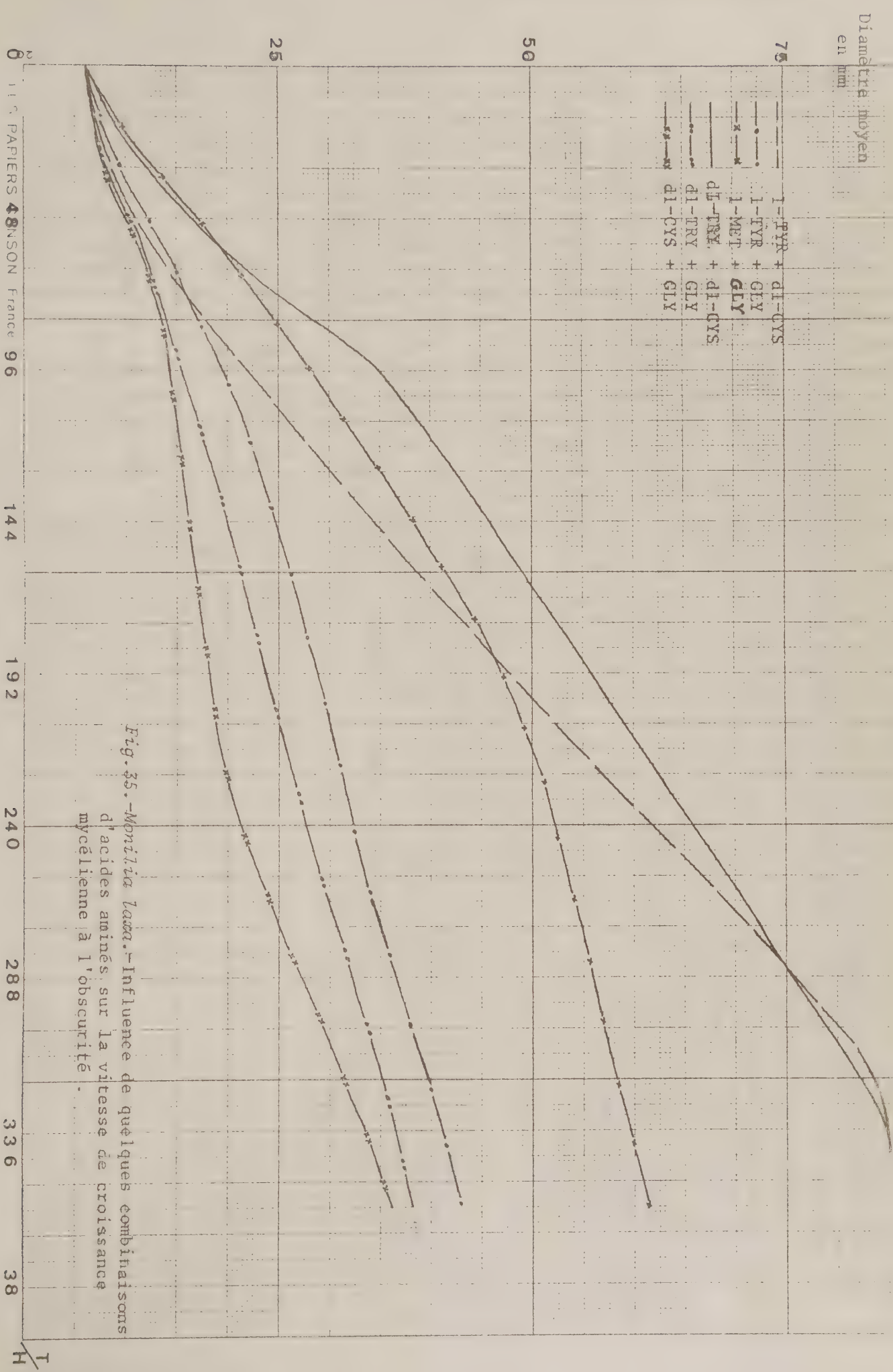


TABLEAU XIV .- Sélection des milieux synthétiques les plus favorables au développement (croissance mycélienne et sporulation) ou à la formation du sclérote chez les deux espèces étudiées .

	Croissance mycélienne	Sporulation	Formation du sclérote
<i>Monilia laxa</i>	CZAPECK + dl-TRY (0,43 g/l) (t = 25° , 8h lum. , 16h obsc.) "S" + d-glucose + l-MET (milieu n°9) (t = 25° , lumière continue) "S" + d-glucose + l-TYR(milieu n°6) (t =25° , lumière continue) "S" + d-glucose + dl-TRY(milieu n°10) (t = 25° , lumière continue)	"S" + d-glucose + l-MET (milieu n°9) "S" + d-glucose + A.B.I.A.(0,001 g/l) + GLY (milieu n°14) "S" + d-glucose + l-MET + GLY (milieu n°23) "S" + d-glucose + dl-TRY + GLY (milieu n°25) <u>Conditions expérimentales identi-</u> <u>ques :</u> t = 25° , lumière continue	CZAPECK + dl-TRY (2,27 g/l) (t = 25° , 8h lum. , 16h obsc.) "S" + d-glucose + dl-TRY + GLY (milieu n°25) (t =25° , obscurité)
<i>Monilia fructigena</i>	CZAPECK + dl-TRY (0,43 g/l) (t =25° , 8h lum. , 16h obsc.) "S" + d-glucose + l-MET (milieu n°9) (t =25° , lumière continue) "S" + d-glucose + l-TYR (milieu n°6) (t =25° , lumière continue) "S" + d-glucose + l-MET + GLY (mi- lieu n°23) (t =25° , lumière continue) "S" + d-glucose + dl-TRY + dl-CYS (milieu n°24) (t =25° , lumière continue)	"S" + d-glucose + l-TYR (milieu n°6) "S" + d-glucose + l-MET (milieu n°9) "S" + d-glucose + GLY (milieu n°5) "S" + d-glucose + dl-TRY + dl-CYS (milieu n°24) <u>Conditions expérimentales identi-</u> <u>ques :</u> t = 25° , lumière continue	CZAPECK + dl-TRY (2,27 g/l) (t =25° , 8h lum. , 16h obsc.) "S" + d-glucose + dl-TRY + GLY (milieu n°25) (t =25° , obscurité)

CHAPITRE II

MORPHOGENESE DU SCLEROTE

Au cours de l'étude du comportement physiologique du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* , nous avons remarqué l'effet inducteur et stimulant de l'obscurité sur la morphogenèse du sclérote dont nous décrirons les différentes étapes .

I.- CONDITIONS EXPERIMENTALES

Deux séries de 20 cultures monospores de chaque espèce sont réalisées soit sur milieu à base d'extrait de malt à 5% , soit sur milieu "S" additionné de glucose , de dl-tryptophane et de glycine (milieu n° 25) ; quatre cultures de chaque espèce , exposées à la lumière continue , servent de témoins ; les autres sont placées à l'obscurité . La température varie de 23 à 26 degrés .

L'observation microscopique est effectuée soit à partir des cultures placées sous l'objectif (observation toutes les 24 heures) , soit à partir des coupes réalisées au microtome à congélation (10 à 25 microns) ; dans ce cas , les prélèvements sont faits toutes les 24 heures .

II.-RESULTATS

A.-MILIEUX A BASE D'EXTRAIT DE MALT

1.-Croissance du thalle

A la lumière continue , le diamètre des hyphes qui mesure environ 10 microns chez le *Monilia fructigena* est légèrement inférieur chez le *Monilia laxa* (8 microns) ; par contre , la distance entre deux cloisons qui varie entre 50 et 60 microns chez le *Monilia fructigena* (fig.3 et 4 , p.25) peut atteindre 100 microns chez le *Monilia laxa* (fig.5 et 6 , p.26) . Les vitesses

de croissance des filaments principaux et de leurs ramifications , sensiblement identiques , ne sont mesurables que chez le *Monilia fructigena* car la croissance sinueuse du *Monilia laxa* rend les mesures très difficiles ; le tableau suivant indique quelques vitesses mesurées toutes les 24 heures chez le *Monilia fructigena* .

Nombre d'heures	Vitesse de croissance d'un filament principal en μ /heure	Vitesse de croissance d'un filament latéral en μ /heure
24	116	107
48	140	133
72	165	155
96	198	170
120	206	181

2.-Induction du sclérote

- *Monilia fructigena*

Après 72 heures , en lumière continue comme à l'obscurité , il n'y a aucune différence entre les 2 isolats du point de vue de la croissance du mycélium mais il y a un début de sporulation en lumière continue . A l'obscurité ,



Fig.36.-*Monilia fructigena*.-Ramification anormale des filaments marginaux (extrait de malt à 5%).

24 heures plus tard ,la sporulation est complètement inhibée mais un certain de filaments marginaux montrent à leur extrémité un début de ramification intense (fig.36); une lobation marginale caractérise la colonie . Après

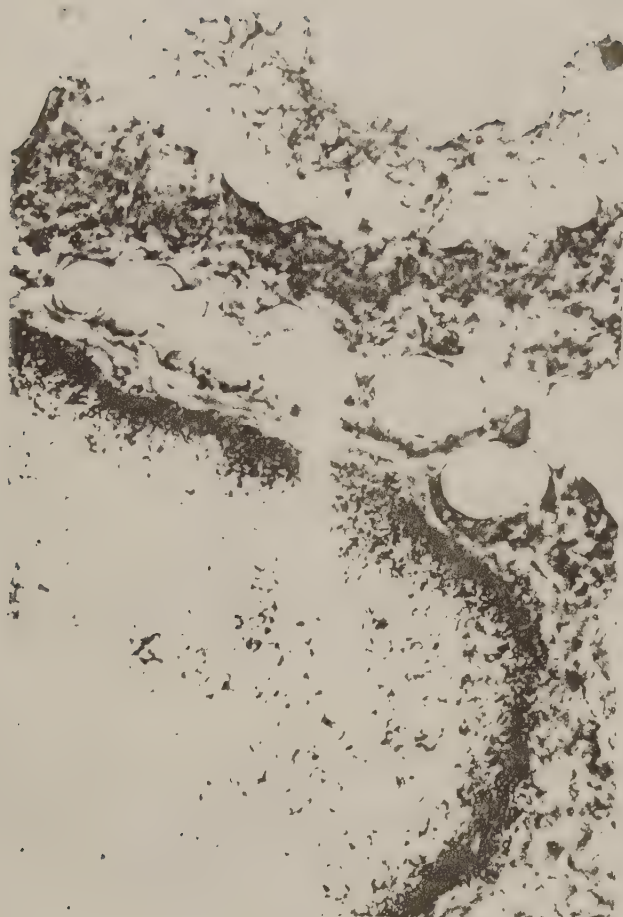


Fig. 38. - *Monilia frustigena*. - Différenciation du cortex et de la medulla dans un sclérote mature (extrait de malt à 5%).

100 μ

Fig. 39. - *Monilia frustigena*. - Détail des filaments du cortex (extrait de malt à 5%).



100 μ

120 heures d'obscurité , une zone pigmentée est nettement décelable à 2 mm de la marge de plus en plus lobée de la culture , on note alors un ralentissement important de la croissance des hyphes anormalement ramifiées . Plus tard encore (144 heures après l'ensemencement) , le pigment brun foncé s'étend vers l'intérieur de la colonie , il y a inhibition complète de la croissance des

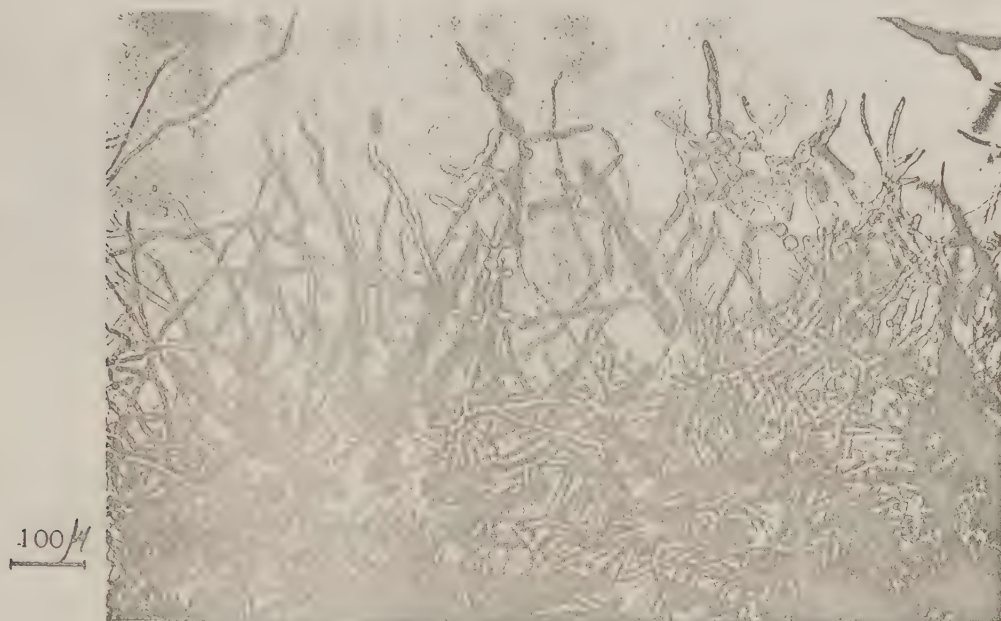


Fig.37.-*Monilia fructigena*. -Gonflement anormal de certaines cellules des hyphes induites au cours de la différenciation du sclérote(extrait de malt à 5%).

filaments anormalement ramifiés ; puis une deuxième zone pigmentée irrégulière apparaît à 2 mm de la nouvelle marge . On remarque aussi un gonflement anormal de certaines cellules des hyphes induites (fig.37), ces cellules étant les "initiales" du sclérote . Après 192 heures , les cloisons pigmentées s'épaississent et de nouvelles cloisons transversales se différencient ; d'autres points pigmentés apparaissent dans la nouvelle zone marginale , après 216 heures ; la croissance des filaments induits semble inhibée tandis que , çà et là , des groupes d'hyphes poursuivent leur croissance normalement .Après 240 heures à l'obscurité, les colonies, blanches à la face supérieure (aucune sporulation), sont de plus en plus pigmentées à la face inférieure où l'on remarque une zonation. Chaque zone se dissocie progressivement en sclérotomes matures au niveau desquels on distingue un cortex formé de filaments périphériques denses , très pigmentés et une zone centrale ou medulla constituée de filaments mycéliens normaux enchevêtrés ("tissu" compact) (fig.38 et 39).

- *Monilia laxa*

A l'obscurité, contrairement au cas du *Monilia fructigena*, la sporulation n'est pas entièrement inhibée et la différenciation complète du sclérote nécessite l'exposition des cultures à la lumière continue après leur séjour à l'obscurité (ce séjour d'environ 240 heures est nécessaire au déclenchement du processus de la morphogénèse du sclérote). Après 96 heures à l'obscurité, la ramification des filaments marginaux est anormale (fig. 40); 24 heures plus tard, aucune pigmentation n'apparaît encore et la vitesse de croissance des filaments anormalement ramifiés est très ralentie ou même inhibée pour certains

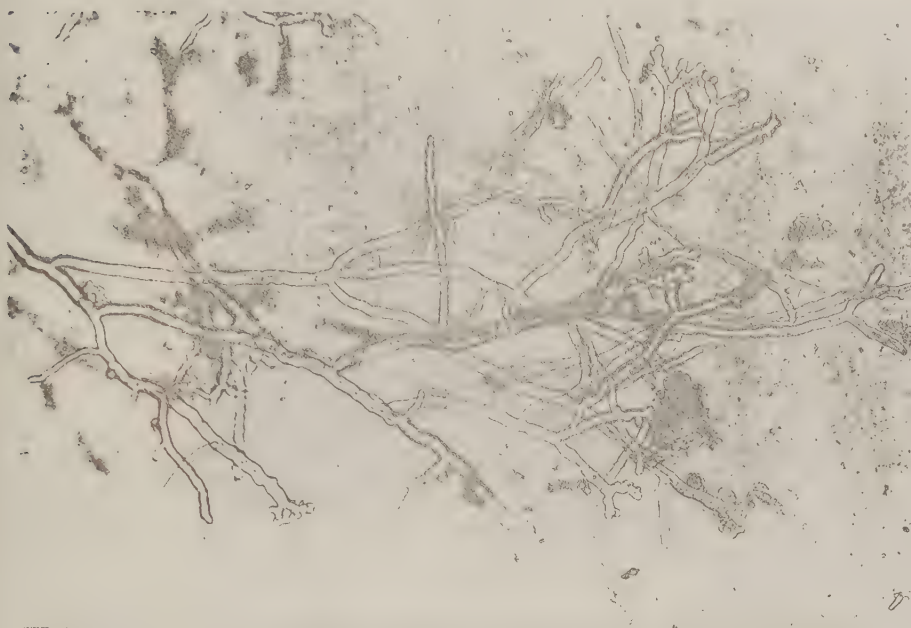
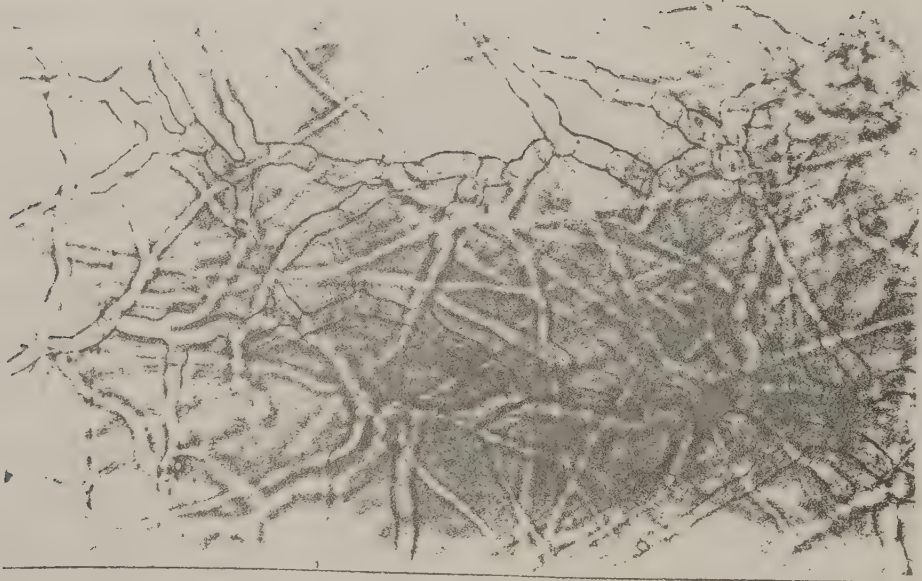


Fig. 40.-*Monilia laxa*.-Ramification anormale des filaments marginaux (extrait de malt à 5%). 100M

d'entre eux ; la colonie est de plus en plus lobée ; une zonation due à la croissance continue de certains filaments marginaux se manifeste après 216 heures (fig. 41) . A ce moment, les cultures sont placées en lumière continue ; environ 7 jours plus tard, un pigment brun se différencie au niveau des

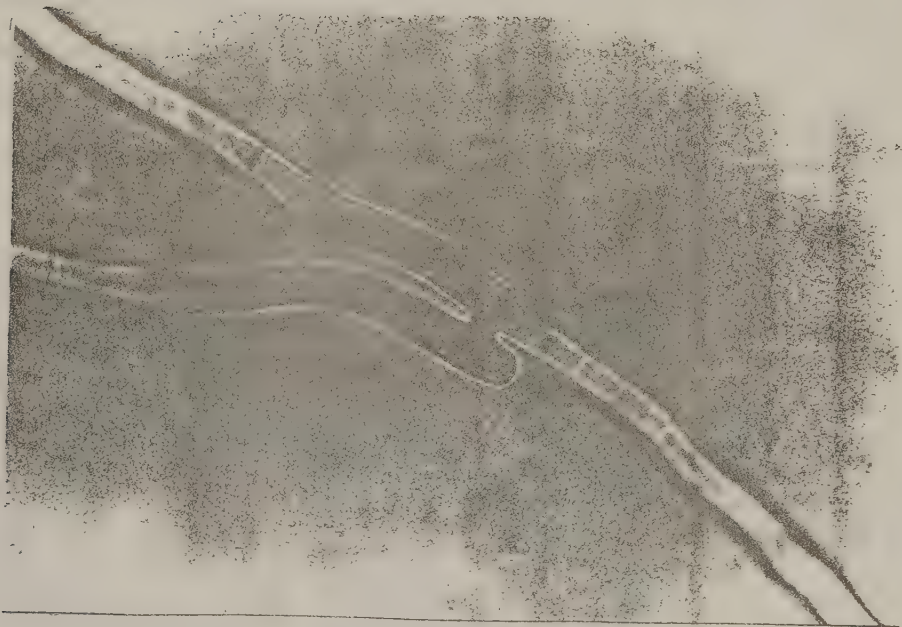
Fig. 41.-*Monilia laxa*.-Zonation et lobation de la colonie (extrait de malt à 5%). (xl)





a

80 μ



b

40 μ

Fig.43. - *Monilia laxa*. - Détails de la coalescence des filaments:
a et b (extrait de malt à 5%).

filaments marginaux anormalement ramifiés appartenant aux zones successives. Au niveau de chaque zone , les premiers sclérotos s'individualisent à la suite d'une coalescence des groupes de filaments ramifiés , très pigmentés (fig.42 et 43) .



Fig.42.-*Monilia laxa* .-Individualisation des sclérotos (extrait de malt à 5%) .

320 μ

La structure des sclérotos est la même que chez le *Monilia fructigena* (fig.44) .



Fig.44.-*Monilia laxa* .-Différenciation du cortex et de la medulla dans un sclérote mature (extrait de malt à 5%) .

100 μ



Fig. 45. - *Monilia fructigena*. - Germination de sclérotés formés à l'obscurité et à 10° (extrait de malt à 5%). (xl)



Fig. 46. - *Monilia laxa*. - Germination de sclérotés formés sous l'influence d'un éclaircissement quotidien de 8 heures et à 25° (extrait de malt à 5%) (xl)

CHAPITRE III

GERMINATION DU SCLEROTE . ETUDE MORPHOLOGIQUE DES FORMATIONS MYCELIENNES PARTICULIERES DU MONILIA LAXA .

I.- GERMINATION DU SCLEROTE CHEZ LE MONILIA FRUCTIGENA ET LE MONILIA LAXA

Nous entendons par germination du sclérote , sa réversion vers le stade mycélien (*fig.45 et 46*) .

A.-CONDITIONS EXPERIMENTALES

Nous avons choisi d'une part , des sclérotés des deux espèces de *Monilia* obtenus sur milieu "S" additionné de d-glucose , de dl-tryptophane et de glycine (milieu n° 25) sous l'influence d'un éclaircissement quotidien , à 25° , et d'autre part , des sclérotés du *Monilia fructigena* obtenus sur milieu à base d'extrait de malt , à l'obscurité , soit à 25° , soit à 10° ; ces sclérotés , capables de résister aux manipulations de prélèvement et de désinfection, sont immergés pendant deux minutes dans une solution d'hypochlorite de calcium titrant 6 degrés chlorométriques , ce qui a pour effet de détruire les fragments mycéliens susceptibles d'être prélevés en même temps que les sclérotés . Après lavage à l'eau stérile (trois bains successifs) , puis séchage sur papier filtre , les sclérotés sont placés sur un milieu gélosé à base d'extrait de malt à 2% , à la lumière continue et à 25° .

B.-RESULTATS

Le délai de germination du sclérote varie de 3 à 5 jours selon les conditions physiques qui ont déterminé sa germination . Dans le cas du *Monilia fructigena*,

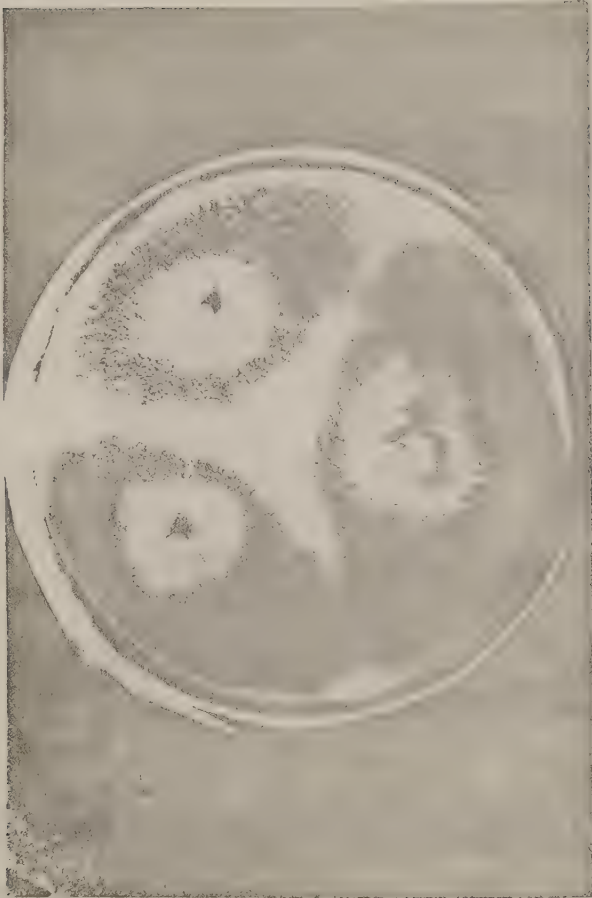


Fig. 48. - *M. nictitans*. -
Culture de formations
mycéliennes particu-
lières à la lumière
continue : sporulation
normale (extrait de
Pomme de terre gluco-
sée). (x 1)

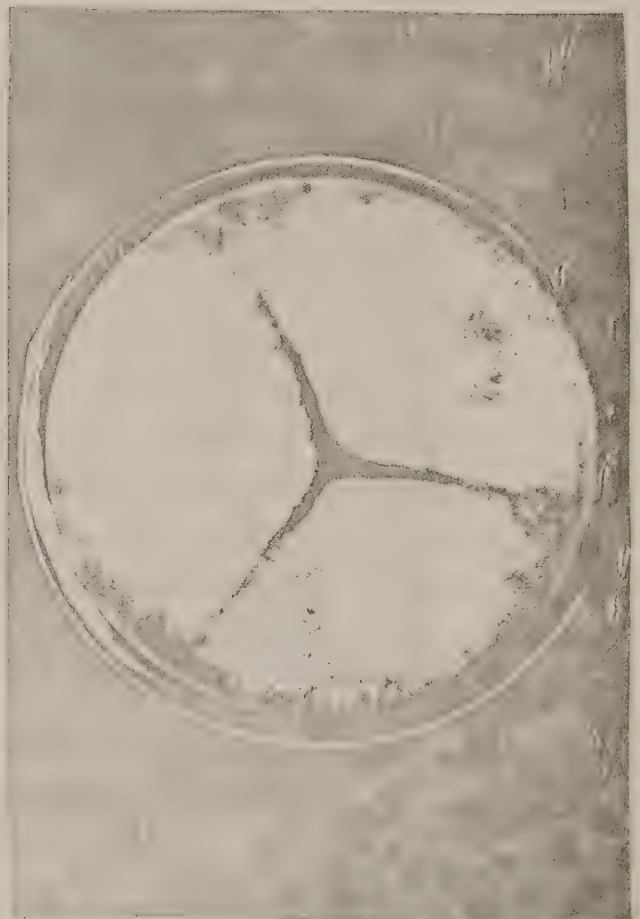


Fig. 49. - *M. nictitans*. -
Culture de formations
mycéliennes particu-
lières à l'obscurité:
sporulation très inhi-
bée (extrait de Pom-
me de terre glucosée)

(x 1)

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE MICRO-ORGANISMES SUR LA FORMATION DU SCLEROTE.

La présence du *Monilia* dans les bourgeons de la plupart des arbres fruitiers est fréquente , mais souvent le développement du Champignon est inhibé ; cette inhibition pourrait être due à l'influence antagoniste d'un certain nombre d'agents saprophytes ou parasites : c'est ce que nous nous sommes proposé de vérifier .

I.- MATÉRIEL

Nous avons cultivé les isolats monospores du *Monilia fructigena* (isolat B) et du *Monilia laxa* (isolat X) au voisinage des micro-organismes suivants isolés à partir des momies de cerises .

Monilia fructigena Pers. (isolat A)
Monilia laxa (Ehrenb.) Sacc. (isolat Y)
Cladosporium herbarum (Pers.) Lk.
Fusarium roseum Lk.
Trichothecium roseum (Bull.) Lk.
Alternaria tenuissima (Fr.) Wiltsh.
Alternaria chartarum Preuss
Pullularia pullulans (De By. et Loew) Berkh.
Botrytis cinerea Pers.
Trichoderma viride Preuss
Rhizopus nigricans Ehrenb.
Bacillus subtilis Ehrenb.

L'antagonisme provoqué par le *Bacillus subtilis* fait l'objet d'une étude particulière .

II.- CONDITIONS EXPERIMENTALES

A.-MILIEU

Chacune des deux espèces de *Monilia* est cultivée avec l'un des micro-organismes sur un milieu gélosé à base d'extrait de malt à 2% .

B.-ECLAIREMENT -TEMPERATURE

Les cultures sont placées en lumière continue ou à l'obscurité , à une température de 25°.

C.-EXTRACTION DES SUBSTANCES SPECIFIQUES DU *BACILLUS SUBTILIS*

D'une part , nous avons extrait les substances exogènes sécrétées par le *Bacillus subtilis* dans le milieu de culture (extraction exogène) et , d'autre part , nous avons provoqué la lyse des cellules aux ultra-sons afin de libérer leur contenu (extraction endogène).

1.-Extraction exogène

Le Bacille est ensemencé dans 100 ml de malt à 2% , à l'intérieur d'une boîte de ROUX ; la culture liquide est soumise à une agitation permanente , à la lumière du jour et à 22° ; deux jours après l'ensemencement , 40 ml de milieu sont prélevés et centrifugés à 6000 tours/minute pendant 15 minutes ; le surnageant est filtré sous vide sur un filtre Millipore (diamètre des pores=0,45 μ).

Le filtrat de Bacille est réparti dans des boîtes de PETRI à raison de 2 ml par boîte (des boîtes de PETRI renfermant 2 ml d'eau stérile servent de témoins); dans les deux cas , on ajoute 12 ml de malt à 2% contenant 20 g de gélose par litre , à une température inférieure à 50° . L'ensemencement des *Monilia* est ensuite réalisé à partir d'explantats de 6 mm de diamètre .

2.-Extraction endogène

Le Bacille est ensemencé sur un milieu gélosé (20 g de gélose par litre) à base d'extrait de malt à 2% , dans une boîte de ROUX et la culture est exposée à la lumière du jour , à 22° ; deux jours après l'ensemencement , on prépare une suspension de Bacilles à partir de liquide physiologique tamponné (40 ml) afin d'éviter les variations de pH et de concentrations en ions du milieu . La suspension ainsi obtenue est centrifugée à 6000 tours/minute pendant 15 minutes . Après l'élimination du surnageant , le culot est dilué dans 40 ml d'eau physiologique tamponnée , soumis aux ultra-sons (6 μ) pendant 10 minutes et filtré sous vide sur filtre Millipore . Les processus expérimentaux de mise en culture des *Monilia* sont les mêmes que dans l'extraction exogène .

TABLEAU XV.- Influence de différents micro-organismes sur la croissance du *Monilia fructigena*.

Micro-organismes	Date d'en- semencement	Date d'ob- servation	Lumière continue	Obscu- rité
<i>Monilia laxa</i> (isolat X)	18-II-70	28-II-70	-	-
<i>Monilia laxa</i> (isolat Y)	18-II-70	28-II-70	-	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	23-II-70	2-I2-70	-	+
<i>Fusarium roseum</i>	23-II-70	2-I2-70	-	-
<i>Trichothecium roseum</i>	24-II-70	2-I2-70	++	+++
<i>Alternaria tenuissima</i>	23-II-70	2-I2-70	+	++
<i>Alternaria chartarum</i>	23-II-70	2-I2-70	+	+
<i>Pullularia pullulans</i>	23-II-70	29-II-70	-	+
<i>Botrytis cinerea</i>	25-II-70	2-I2-70	-	+
<i>Trichoderma viride</i>	26-II-70	29-II-70	+	+
<i>Rhizopus nigricans</i>	26-II-70	29-II-70	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	23-II-70	4-I2-70	++	++

- : pas d'antagonisme
+ : léger antagonisme
++ : antagonisme marqué (formation du pigment noir)
+++ : antagonisme très marqué (formation du sclérote)

Milieu de culture :

extrait de malt à 5%

Conditions expérimentales :

t = 25°

Lumière continue ou obscurité

TABLEAU XVI.- Influence de différents micro-organismes sur la croissance du *Monilia laxa* .

Micro-organismes	Date d'en- semencement	Date d'ob- servation	Lumière continue	Obscu- rité
<i>Monilia fructigena</i> (isolat B)	18-11-70	28-11-70	+	+
<i>Monilia fructigena</i> (isolat A)	18-11-70	28-11-70	+	+
<i>Cladosporium herbarum</i>	23-10-70	2-12-70	-	-
<i>Fusarium roseum</i>	23-10-70	2-12-70	-	+
<i>Trichothecium roseum</i>	24-11-70	2-12-70	+++	+++
<i>Alternaria tenuissima</i>	23-11-70	2-12-70	++	+++
<i>Alternaria chartarum</i>	23-11-70	2-12-70	++	+++
<i>Pullularia pullulans</i>	23-11-70	29-11-70	-	-
<i>Botrytis cinerea</i>	25-11-70	2-12-70	-	++
<i>Trichoderma viride</i>	26-11-70	29-11-70	+	++
<i>Rhizopus nigricans</i>	26-11-70	29-11-70	+	++
<i>Bacillus subtilis</i>	23-11-70	4-12-70	++	+++

- : pas d'antagonisme

+

++ : antagonisme marqué (formation
du pigment noir)

+++ : antagonisme très marqué (for-
mation du sclérote)

Milieu de culture :

extrait de malt à 5%

Conditions expérimentales :

t = 25°

Lumière continue ou obscurité

III.-RÉSULTATS

A.-INFLUENCE DES DIFFERENTS MICRO-ORGANISMES

Les manifestations de l'antagonisme des micro-organismes vis à vis du développement du *Monilia* sont plus ou moins prononcées (*Tableaux XV et XVI* , p.91 et 92).

Dans le cas d'un antagonisme léger , un pigment brun se différencie ; si l'antagonisme est plus marqué , la pigmentation est noire (*fig.50*); enfin dans le cas extrême , il y a individualisation du sclérote .



Fig.50.-Culture de *Monilia laxa* (à droite) au voisinage de l'*Alternaria tenuissima* (à gauche):antagonisme de croissance caractérisé par la formation du sclérote chez le *Monilia laxa* (extrait de malt à 2%) (x 1)

Le *Monilia laxa* est plus sensible aux antagonistes que le *Monilia fructigena* . Dans les deux cas , l'effet antagoniste est accentué à l'obscurité (évolution plus rapide du processus de la morphogénèse du sclérote) .

Nous n'avons pas remarqué d'antagonisme proprement dit entre les deux espèces étudiées , ni entre les différents isolats d'une même espèce . En effet , dans les cultures développées à l'obscurité (cultures âgées de 4 à 6 jours) , lorsque les filaments marginaux de deux lobes d'une même colonie mycélienne ou de deux colonies provenant d'un même isolat arrivent en contact, ils sont dépourvus de filaments latéraux; la croissance se poursuit et le mycélium retrouve son aspect normal .



Fig.51.-Culture de *Monilia fructigena* et de *Bacillus subtilis*: antagonisme caractérisé par l'inhibition de croissance du *Monilia fructigena* (extrait de malt à 2%) (x 1)

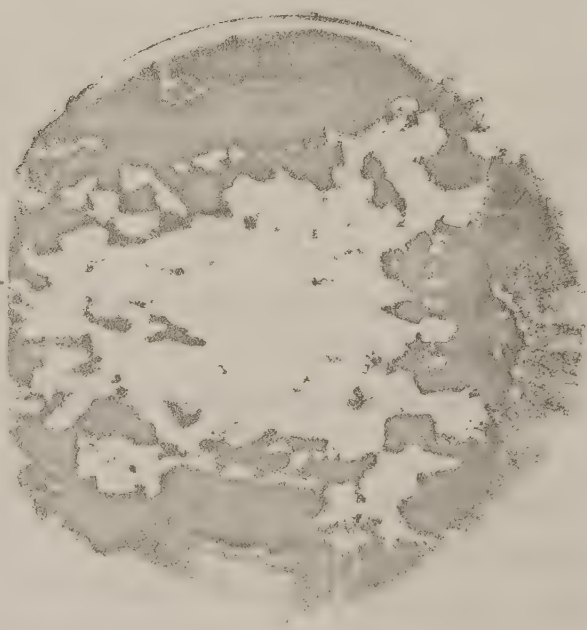


Fig.52.-Culture de *Monilia laxa* et de *Bacillus subtilis*: antagonisme caractérisé par l'inhibition de croissance du *Monilia laxa* (extrait de malt à 2%)

(x 1)

Parmi les différents micro-organismes étudiés , le *Trichothecium roseum* et le *Bacillus subtilis* (fig.51 et 52) sont responsables d'un antagonisme très

marqué . Dans le cas du *Pullularia pullulans*(fig.53 et 54), lorsque les colonies mycéliennes arrivent en contact, les filaments marginaux du *Monilia* poursuivent normalement leur croissance alors que ceux du *Pullularia pullulans* montrent certaines perturbations morphologiques se traduisant par une inhibition rapide de la croissance des filaments latéraux et une augmentation importante du nombre des cloisons transversales .



Fig.53.-Croissance normale des filaments mycéliens du *Pullularia pullulans* (extrait de malt à 2%) .

Au cours de l'induction du sclérote , les transformations morphologiques du mycélium sont les mêmes que celles observées sous l'influence de l'obscurité .

Fig.54.-Perturbations morphologiques des filaments mycéliens du *Pullularia pullulans* résultant de l'action antagoniste du *Monilia fructigena* (extrait de malt à 2%)



B.-CAS PARTICULIER DU *BACILLUS SUBTILIS*

En présence d'extrait endogène du *Bacillus subtilis*, la croissance des deux Champignons est inhibée 72 heures après l'ensemencement , alors qu'en présence d'extrait exogène , les résultats sont sensiblement identiques à ceux des témoins .

[illegible]

CHAPITRE V

ETUDE CYTOLOGIQUE

Nous avons essayé de mettre en évidence les changements qui peuvent intervenir au niveau des noyaux au cours de la transformation progressive du mycélium en sclérote et nous avons repris le matériel habituel (isolat monospore B : *Monilia fructigena* et isolat monospore X : *Monilia laxa*).

I.- TECHNIQUES

A.-COLORATION DE HOFFMANN

Cette technique a été mise au point et appliquée par HOFFMANN (23) à des cultures sur lame de *Monilia fructigena* et de *Monilia laxa* , afin d'étudier la structure du noyau .

Les cultures sur lames sont d'abord fixées pendant 10 minutes par un mélange d'alcool éthylique à 95^c (3 parties) et d'acide acétique normal (1 partie) ; elles sont ensuite lavées par trois bains rapides d'alcool absolu , puis réhydratées par un bain d'alcool à 70^c pendant 30 minutes , puis par un bain d'eau distillée . Les préparations soumises à l'hydrolyse (bain de 10 minutes dans une solution d'HCl) , sont séchées pendant 7 minutes à 50° ; puis elles sont lavées dans un bain d'eau distillée (15 minutes) et immergées dans une solution tampon phosphate à pH = 6,9 pendant 15 minutes ; elles sont alors colorées dans une solution de GIEMSA pendant 40 à 60 minutes . Après la coloration, les préparations sont différenciées au moyen de la solution tampon (pH = 6,9).

La technique de HOFFMANN ne nous ayant pas fourni des résultats très satisfaisants , nous avons mis au point une technique de coloration à base de nigrosine.



Fig. 55.-*Monilia fructigena*. - Passage des noyaux d'une conidie à l'autre (coloration à la nigrosine)

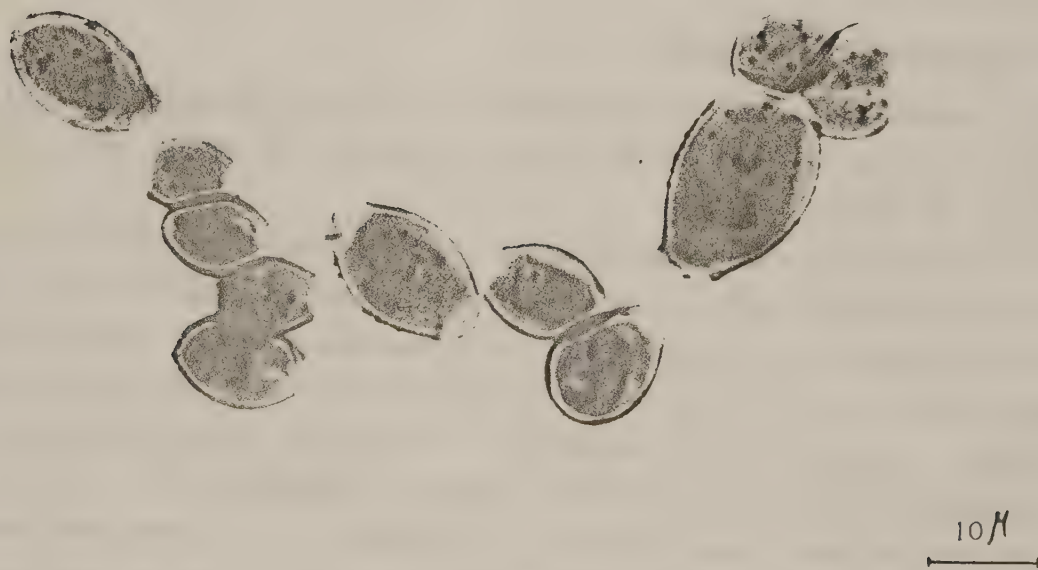


Fig. 56.-*Monilia fructigena*. - Conidies isolées (coloration à la nigrosine)

B.-COLORATION A LA NIGROSINE

Nous avons remplacé le réactif de GIEMSA par la nigrosine , colorant spécifique de la chromatine .

Du blanc d'oeuf et de la glycérine sont mélangés à poids égal , puis filtrés au réfrigérateur ; de l'eau albuminée est alors obtenue en ajoutant un volume de ce filtrat à 15 volumes d'eau distillée . Le matériel , mycélium et conidies, est ensuite placé dans deux gouttes d'eau albuminée , sur des lames de verre soigneusement lavées (l'albumine facilite le collage du matériel et forme une couche protectrice) . Les préparations sont alors séchées dans une étuve à 40° pendant 20 minutes ; puis le matériel est fixé par un mélange en parties égales d'alcool éthylique à 95^C et d'acide acétique normal , pendant 10 minutes . Les préparations sont lavées et réhydratées : alcool absolu (3 parties), alcool à 90^C (un bain rapide) , alcool à 70^C (30 minutes) , alcool à 50^C (une minute) et eau distillée , puis hydrolysées pendant 10 minutes dans une solution composée de 3 parties d'acide chlorhydrique (12 N) et d'une partie d'eau distillée : elles sont ensuite séchées pendant 7 minutes et lavées à nouveau à l'eau distillée .

Les préparations peuvent alors être colorées . Le colorant utilisé est préparé de la façon suivante : 20 g de nigrosine soluble dans l'alcool sont dissous dans un mélange de 250 ml d'acide acétique et de 250 ml d'eau distillée ; après filtration , on ajoute une quantité d'acide acétique correspondant au 1/5 du volume du filtrat obtenu . Les lames sont immergées dans le colorant pendant 30 minutes , lavées à l'eau distillée et séchées à l'étuve (10 minutes à 40°) . Pour faciliter l'observation microscopique , une goutte d'eau glycinée est déposée sur la préparation .

II.-RESULTATS

Les noyaux colorés à la nigrosine sont noirs (fig.55 à 58) . Dans un échantillon de 150 conidies obtenues à la lumière continue et à 25° , le nombre des noyaux des conidies isolées varie de 5 à 16 chez le *Monilia fructigena* (moyenne de 10,22 noyaux par conidie) , de 3 à 15 chez le *Monilia laxa* (moyenne de 6,74 noyaux par conidie) (fig.59) ; la comparaison statistique de ces deux moyennes a été effectuée grâce au critère "t" de STUDENT : leur différence est très significative . La comparaison de la distribution des noyaux par conidie chez les deux espèces a été réalisée grâce au critère $2 \hat{I}$ appliqué par ARBONNIER (2) , la différence de distribution est encore significative .

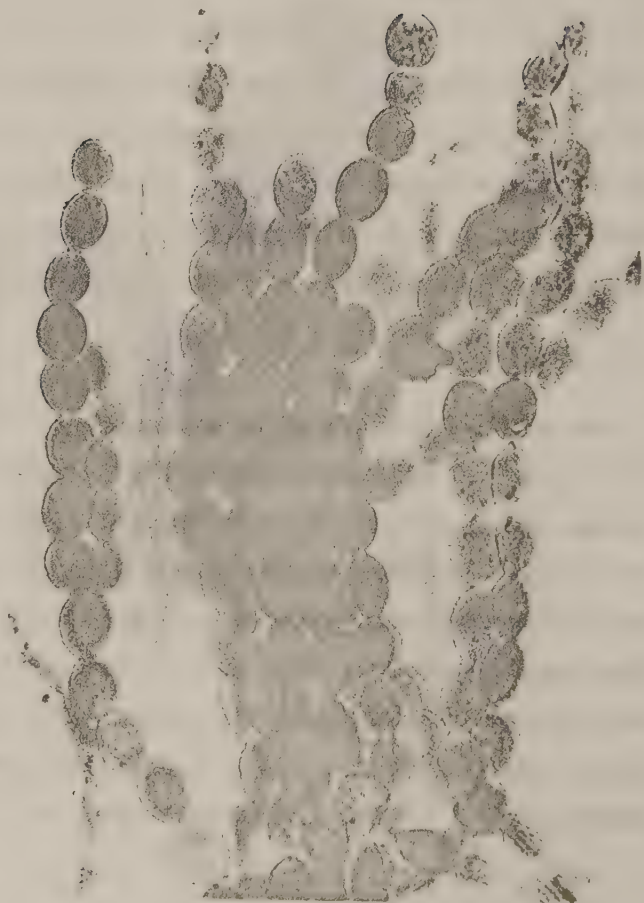


Fig.57.-*Monilia laxa*. -
Conidies isolées (coloration à la nigrosine)

10 μ
—

Fig.58.-*Monilia laxa*. -
Conidies en chaînes
(Coloration à la nigrosine)

10 μ
—



Nombre de ~~noyaux~~
comidie

- 101 -

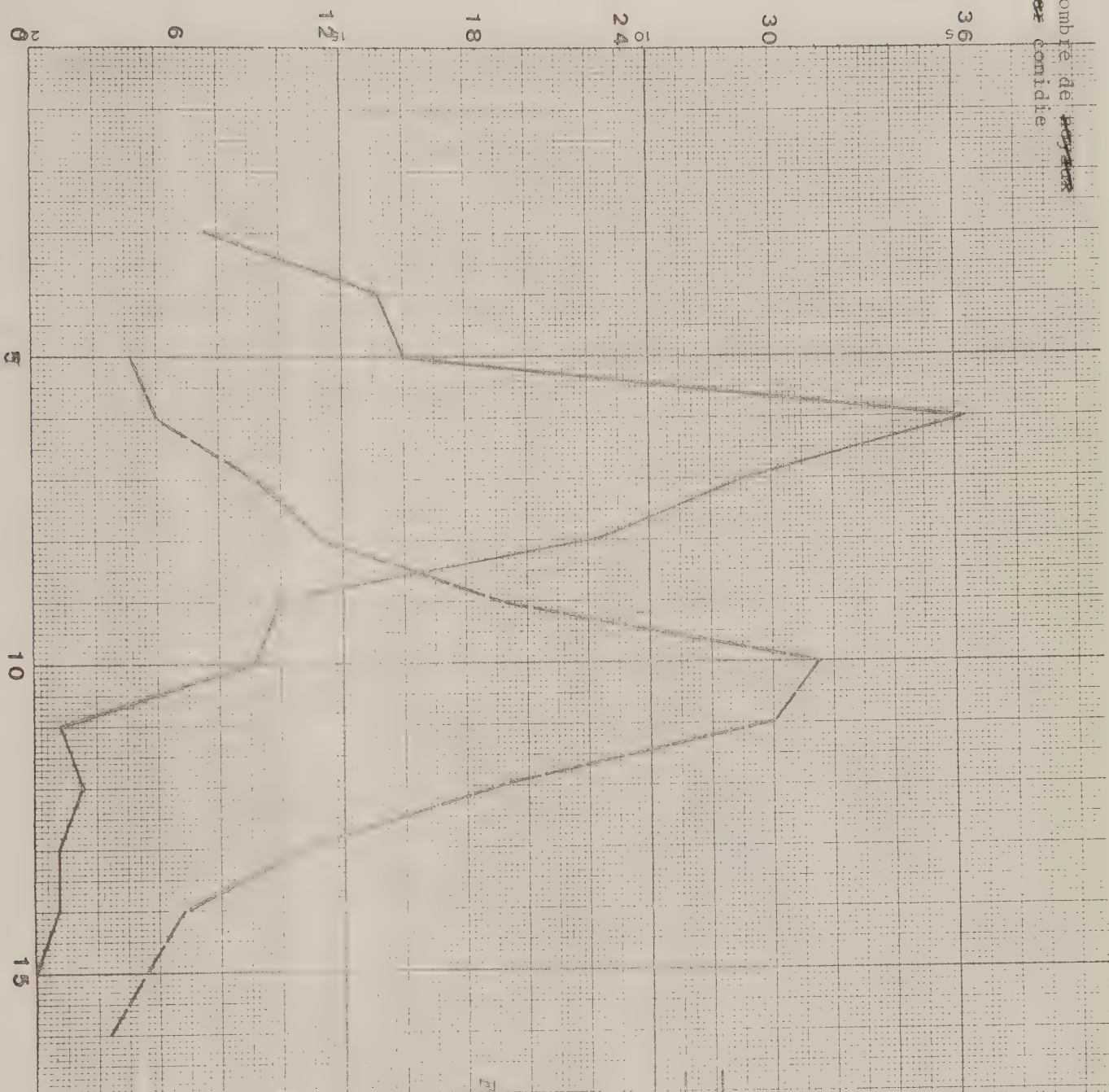


Fig. 59. - Comparaison de la répartition
des noyaux dans les comidies
des deux espèces.

--- *Morilia fructigena*
— *Morilia chadensis*

Répartition

N^o 5 de ~~repartition~~/comidie

Q U A T R I E M E P A R T I E

ANALYSE DES RESULTATS

I.-INFLUENCE DES FACTEURS PHYSIQUES

L'étude de l'influence des facteurs physiques sur la culture du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* montre que les conditions défavorables au développement des Champignons créent un état de déséquilibre physiologique capable de provoquer des transformations morphologiques réversibles (jusqu'à un certain stade) au niveau du mycélium .

Dans les conditions optimales de développement (lumière continue à 23-26°), la formation des sclérotés est nulle ou très réduite chez les deux espèces . Au contraire , si la croissance normale est perturbée (obscurité , basses températures dans le cas du *Monilia fructigena*) , le processus de la morphogénèse est déclenché 5 jours seulement après l'ensemencement lorsque le milieu de culture est suffisamment riche en éléments nutritifs . La comparaison des cultures (aspect des colonies , vitesse de croissance) à la lumière ou à l'obscurité , chez les deux espèces , permet d'affirmer qu'il existe un rapport étroit entre la vitesse d'élongation des filaments marginaux , la formation du mycélium érigé qui donne naissance aux chaînes de conidies et la différenciation des initiales du sclérote .

Chez le *Monilia fructigena* , après le déclenchement du processus d'induction, le développement du mycélium érigé et , par là même , la sporulation sont entièrement inhibés (de rares points fructifiés peuvent cependant apparaître dans la culture) ; on remarque également le ralentissement de la vitesse d'élongation des filaments marginaux .

Chez le *Monilia laxa* , le mycélium érigé et la sporulation ne sont pas complètement inhibés ; la vitesse de croissance marginale n'est pas perturbée d'une manière importante et la croissance mycélienne s'effectue presque aussi bien qu'à la lumière continue . De telles observations permettraient d'expliquer l'absence de pigmentation contrairement au cas du *Monilia fructigena* ; elles confirment aussi l'existence du rapport entre le développement mycélien (croissance mycélienne et sporulation) et la formation du sclérote .

GOUJON (18) , au cours d'une étude sur les mécanismes physiologiques de la formation des sclérotés chez le *Corticium Rolfsii* (Sacc.) Curzi (Corticiacées , Basidiomycètes) , signale que l'une des conditions nécessaires à leur apparition est l'arrêt ou la diminution de la "concurrence trophique" qu'exercent , sur les initiales du sclérote , les hyphes marginales en cours d'élongation .

Selon WILLETTS (63) , l'obscurité facilite la formation du sclérote des espèces européennes du *Monilia* mais elle n'intervient pas chez le *Monilia fruticola* ; cet auteur signale encore les observations de HALL (19) et DICKSON (13) pour lesquels la lumière , indispensable à la formation des "conidiophores" du *Monilia fructigena* et du *Monilia laxa* , n'intervient pas dans le cas du *Monilia fruticola* . WILLETTS (63) conclut que l'inhibition de la sporulation libère un "potentiel énergétique" qui est mis à la disposition des initiales du sclérote , d'où l'existence d'une compétition nutritive entre les chaînes de conidies et ces dernières . En supposant qu'il existe un état d'équilibre physiologique dans les conditions optimales du développement mycéline , chez les Champignons étudiés , on peut penser que les variations des conditions expérimentales provoquent la rupture de cet état d'équilibre et favorisent soit la croissance mycélienne et la sporulation , soit la formation des initiales du sclérote .

II.-INFLUENCE DES FACTEURS TROPHIQUES

La complexité et l'inconstance de la composition des milieux organiques à base de malt , de Pomme de terre ou de néo-peptone ne permettant pas de déterminer d'une façon rigoureuse les éléments responsables de l'induction du sclérote, nous avons utilisé des milieux synthétiques variés qui nous ont conduit aux résultats suivants .

Le milieu CZAPECK , utilisé seul , ne répond pas aux exigences nutritives des deux espèces étudiées , en particulier à celles du *Monilia fructigena* .

L'addition de l-tyrosine et de dl-tryptophane au milieu CZAPECK stimule la croissance mycélienne aux faibles concentrations , et favorise l'induction du sclérote aux concentrations élevées ; or , la tyrosine est l'un des précurseurs des composés mélaniques , ce qui laisse supposer que le pigment précédant la différenciation du sclérote est de nature mélanique . Dans un extrait de mycélium de *Monilia fruticola* , RICH et HORSFALL (47) ont mis en évidence la présence d'une polyphénol-oxydase (du type tyrosinase) susceptible d'oxyder et de polymériser la tyrosine et le catéchol ; l'addition de cet extrait à certains composés phénoliques leur a fourni des réactions colorées dues à l'oxydation des phénols .

La dl-cystine , ajoutée au milieu CZAPECK , est favorable à la croissance du mycélium , mais n'intervient pas dans la formation du sclérote ; or , on sait que cet acide aminé intervient dans la synthèse du phosphate de pyridoxal qui favorise les processus de désamination et la synthèse des protéines nécessaires à la croissance mycélienne .

Le milieu "S" et ses dérivés nous ont fourni des résultats intéressants .

Le d-glucose est le glucide le plus favorable au développement des deux espèces .

A la lumière continue et à 23-26° , les acides aminés les plus favorables à la croissance mycélienne et à la sporulation des deux espèces sont la l-tyrosine et la l-méthionine ; en ce qui concerne la formation des sclérotés , le dl-tryptophane fournit les meilleurs résultats à la lumière continue comme à l'obscurité .

Les concentrations optimales du dl-tryptophane et de l'A.B.I.A. agissant sur la croissance mycélienne sont respectivement de 0,6 g/l et de 0,01 μ g/l dans le cas du *Monilia fructigena* , de 0,1 g/l et de 0,0001 μ g/l dans le cas du *Monilia laxa* . La sporulation est optimale en présence de tryptophane (0,5 g/l) chez le *Monilia fructigena* et d'A.B.I.A. (0,01 μ g/l) chez le *Monilia laxa* (on sait que le tryptophane est le précurseur de l'A.B.I.A.).

Nous avons encore remarqué que l'assimilation des oligo-éléments par les deux espèces de *Monilia* varie selon les acides aminés présents dans le milieu.

III.-MORPHOGENESE DU SCLEROTE

Les principales étapes de la morphogenèse du sclérote sont les suivantes :
- ramification anormale de certains filaments marginaux ,

- différenciation pigmentaire ,
- inhibition de croissance des filaments ramifiés et gonflement anormal de leurs cellules terminales ,
- cloisonnement intense des filaments induits , de plus en plus pigmentés ,
- individualisation des sclérote .

L'obscurité déclenche rapidement les processus de la morphogénèse du sclérote en perturbant le développement normal du Champignon ; chez les deux espèces , la ramification anormale des filaments marginaux se manifeste après 4 à 5 jours à l'obscurité . Chez le *Monilia fructigena* , la différenciation du sclérote se produit normalement à l'obscurité ; par contre , dans le cas du *Monilia laxa* , il est nécessaire d'exposer les cultures à la lumière continue pendant un certain temps (une semaine) pour que la pigmentation se manifeste et que la formation du sclérote se poursuive .

Nous avons remarqué que certaines conditions expérimentales inhibitrices du développement mycélien favorisent la formation des sclérote ; or , l'obscurité ne perturbe pas d'une façon importante le développement du *Monilia laxa* et ceci semble expliquer l'arrêt des processus de différenciation du sclérote qui ne peuvent se poursuivre qu'après une nouvelle perturbation provoquée par la mise en lumière continue . Nos résultats montrent encore que l'individualisation des sclérote résulte soit d'une dissociation progressive des zones pigmentées chez le *Monilia fructigena* , soit de la coalescence des groupes de filaments chez le *Monilia laxa* , ce qui a déjà été signalé par WILLETTTS (63) .

IV.-GERMINATION DU SCLEROTE

La réversion du sclérote vers le stade mycélien résulte d'une reprise de l'activité des cellules de la medulla qui ont conservé un certain potentiel de croissance à l'état latent ; les cellules du cortex semblent avoir perdu toute potentialité de croissance .

V.-INFLUENCE DE MICRO-ORGANISMES SUR LA FORMATION DU SCLEROTE

L'influence de certains micro-organismes sur le développement du *Monilia* détermine un antagonisme de croissance qui se traduit par la formation du sclérote .

Le sclérote , tout en étant une forme de conservation , peut donc être considéré comme une forme de résistance chez les espèces européennes du *Monilia* .

L'antagonisme provoqué par le *Bacillus subtilis* permet de supposer qu'une ou plusieurs substances libérées dans le milieu défavorisent la croissance du *Monilia* .

Nous avons déjà signalé la présence fréquente du *Monilia* dans les bourgeons de la plupart des arbres fruitiers ; or , le développement du Champignon est souvent inhibé , ce qui pourrait résulter de l'influence antagoniste de certains micro-organismes présents dans ces organes . Les phénomènes d'antagonisme sont à rapprocher de la notion d'équilibre biologique de la microflore fongique ou bactérienne au niveau des organes végétaux .

VI.-ÉTUDE CYTOLOGIQUE

La coloration des noyaux par la technique de HOFFMANN n'étant pas satisfaisante , nous avons mis au point une coloration à base de nigrosine qui nous a permis d'effectuer des comparaisons statistiques des noyaux chez les deux espèces .

Abstract

C I N Q U I E M E P A R T I E

CONCLUSIONS G E N E R A L E S

Nous avons obtenu les résultats généraux suivants .

1.- Il existe un rapport étroit entre la vitesse de croissance mycélienne des filaments marginaux , la formation du mycélium érigé qui donne naissance aux chaînes de conidies et la différenciation des initiales du sclérote .

2.- Les variations des conditions expérimentales sont susceptibles de provoquer la rupture de l'état d'équilibre physiologique , ce qui favoriserait la croissance mycélienne , la sporulation ou la formation du sclérote .

3.- La tyrosine qui favorise l'induction du sclérote est l'un des précurseurs des composés mélaniques , ce qui laisse supposer que le pigment précédant sa différenciation est de nature mélanique .

4.- La cystine qui stimule la croissance mycélienne intervient dans la synthèse du phosphate de pyridoxal ; ce composé favorise les processus de déamination et la synthèse des protéines nécessaires à la croissance .

5.- Nous avons mis en évidence les principales étapes de la morphogenèse du sclérote chez les deux espèces .

6.- L'individualisation des sclérotos résulte soit d'une dissociation progressive des zones pigmentées chez le *Monilia fructigena* , soit de la coalescence des groupes de filaments chez le *Monilia laxa* .

7.- Le sclérote , tout en étant une forme de conservation , peut être considéré comme une forme de résistance chez les espèces européennes du *Monilia*.

Cette étude biologique portant sur la forme asexuée des *Monilia* ne nous permet pas de généraliser les résultats obtenus , étant donné l'hétérogénéité nucléaire des conidies ; or , si nous arrivions à provoquer la reproduction sexuée , nous pourrions utiliser un matériel génétiquement stable .

Il nous paraît souhaitable de poursuivre l'étude des facteurs physiques , en particulier celle de l'influence des lumières monochromatiques et des variations de l'intensité lumineuse . De plus , il serait nécessaire d'expliquer le comportement différent des deux espèces étudiées aux basses températures , le *Monilia fructigena* produisant des sclérotés , le *Monilia laxa* , des formations mycéliennes particulières . Nous insisterons sur les différences de comportement physiologique des deux espèces étudiées ; elles devraient permettre d'apporter des compléments indispensables dans la différenciation des espèces là où la morphologie se révèle insuffisante .

Il faudrait ajouter à l'étude des facteurs trophiques une analyse biochimique approfondie qui permettrait de préciser les exigences nutritives des *Monilia* ainsi que le rôle joué par les composés phénoliques dans la morphogenèse du sclérote.

Enfin , l'étude des ultrastructures cellulaires au microscope électronique permettrait peut-être de préciser les transformations des cellules mycéliennes en initiales du sclérote .

— — — — —

B I B L I O G R A P H I E

- 1.-ADERHOLD (R.) et RUHLAND (W.).-Zur Kenntnis der Obstbaum-Sklerotinien .
Arb.biol.Abt.(Anst.-Reichsanst.),Berl., 1905,4, 427-442 .
- 2.-ARBONNIER (P.).-L'analyse de l'information . Aperçu théorique et application à la loi binominale . *Ann.Sc.Forest.*, 1966,22(4), 951-1020.
- 3.-BONDOUX (P.).- Les Monilioses . In : *Les Champignons parasites des arbres fruitiers à noyau* . Ed.M.Ponsot , Paris , 1967 , 15- 25 .
- 4.-BONDOUX (P.).-La flore fongique des bourgeons des arbres fruitiers.*C.R. Ac.Agric.Fr.*, 1967,53, 723-730.
- 5.-BONDOUX (P.) , LANCRENON (P.) et RENAUD (R.).-Présence du *Monilia laxa* dans les bourgeons du Prunier .*Ann.Phytopatho.*, 1969,1, 117.
- 6.-BONDOUX (P.) et OLIVIER (J-M.).- La flore fongique des bourgeons et ses relations avec celle des pourritures de fruits . *C.R.Ac.Agric.Fr.*, 1970,56, 1106-1112.
- 7.-BONORDEN (H-F.).-Handbuch der allgemeinen Mykologie .Stuttgart, 1851, 76.
- 8.-BOUDIER (E.).-*Histoire et classification des Discomycètes d'Europe*.Paris, 1907, 108-109.
- 9.-BRENDA (B.) , TOWNSEND (L.W.) et WILLETTS (H.J.).-The development of sclerotia of certain fungi .*Trans.Br.Mycol.Soc.*, 1954,37, 213-221.
- 10.-COOLEY (J.S.).-A study of physiological relations of *Sclerotinia cinerea* (Bon.) Schröter.*Ann.Mo.Bot.Gdn.* 1914,1, 291-326.
- 11.-CURTIS (K.M.).-The morphological aspects of resistance to brown-rot in stone fruit .*Ann.Bot.Lond.*, 1928,42, 39-68.
- 12.-DARPOUX (H.) et FAIVRE-AMIOT (A.).-Action antagoniste de divers micro-organismes sur les agents pathogènes . *C.R.Ac.Agric.Fr.*, 1949,35, 266-269.
- 13.-DICKSON (H.).-The effect of the growth of *Sclerotinia fructigena* of alternating periods of light and darkness of equal length .*Ann. Bot.Lond.*, 1939,3, 131-136.
- 14.-EHRENBERG (C.G.).-*Sylvae mycologicae berolinensis*.Berlin , 1818.
- 15.-EZEKIEL (W.N.).-Some factors affecting the production of apothecia of *Sclerotinia cinerea*.*Phytopathology*, 1921,11, 495-499.
- 16.-FISCHER (H.).-Der Einfluss der Infektion auf die Temperatur und die Atmung pflanzlicher Gewebe.*Phytopatho.Zeitsch.*, 1950,16, 171-202.

- 17.-GEIGER (W.B.).-The mechanism of antibacterial action of quinones and hydroquinones .*Arch.Bioch.*, 1946,11,23-32.
- 18.-GOUJON (M.).-Mécanismes physiologiques de la formation des sclérotés chez le *Corticium rolfsii* (Sacc.)Curzi.*Bull.Physio.vég.Fr.*, 1970, 8(3),349-360.
- 19.-HALL (M.P.).-An analysis of the factors controlling the growth form of certain fungi with special reference to *Sclerotinia* (*Monilia*)*fructigena* .*Ann.Bot.Lond.*, 1933,47,543-578.
- 20.-HALL (R.).- Cytology of asexual stages of the Australian brown-rot fungus *Monilia fructicola* (Wint.)Rehm..*Cytologia*, 1963,28,181-193.
- 21.-HARRISON (T.H.).-Brown-rot of fruits and associated diseases of deciduous fruit trees . I.-Historical review and critical remarks concerning taxonomy and nomenclature of the causal organisms .*Journ.roy.Soc.N.S.W.*, 1933,67,132-177.
- 22.-HEUBERGER (J.W.).-Fruit-rotting Sclerotinias .IV.-Cytological study of *Sclerotinia fructicola* (Wint.)Rehm..*Bull.Md.agric.Exp.Sta.*, 1934, 371,167-189.
- 23.-HOFFMANN (G.M.).-Kernverhältnisse bei *Monilia fructigena* und *Monilia laxa* . *Phytopatho.Zeitsch.*, 1970, 68, (2),143-155.
- 24.-HONEY (E.E.).-The Monilioid species of *Sclerotinia*.*Mycologia*, 1928,20, 127-157.
- 25.-HORNE (H.S.).-Biological work on fruit .*Rep.Food Invest.Bd.Lond.*, 1933, 228-245.
- 26.-JENKINS (P.T.) et REINGANUM (C.).-The occurrence of a quiescent infection on stone fruit caused by *Sclerotinia fructicola* (Wint.)Rehm..*Aust. Jour.Agric.Res.*, 1965,16 (2),131-140.
- 27.-JEREBZOFF (S.).-Etude des phénomènes périodiques provoqués par les facteurs physiques et chimiques chez quelques Champignons.*Thèse Doct.Sc.nat.* ,Toulouse,1961.
- 28.-JEROME (S.M.R.).-Brown-rot of stone fruits . Latent contamination in relation to spread of the disease .*Journ.Aust.Inst.Agric.Sc.*, 1958, 132-140.
- 29.-JOESSEL (P.H.).-Le problème du *Monilia* de l'Abricotier dans la vallée du Rhône . *Bull.off.rég.agric.du Midi*, 1932,44,1-69.
- 30.-JUNG (J.).-Sind Narbe und Griffel Eintrittspforten für Pilzinfektionen? *Phytopatho.Zeitsch.*, 1956,27,406-426.

- 31.-KATSER (A.).-Ueber die Resistenz verschiedener Apfelsorten gegenüber *Sclerotinia fructigena* (Pers.) Schrbet. und ihre Beziehung zur Wasserstoffionenkonzentration . *Phytopatho. Zeitsch.*, 1933, 6, 177-227.
- 32.-KOGL (F.) et FRIES (N.).-Ueber den Einfluss von Biotin ,Aneurin und Meso-Inosit auf das Wachstum verschiedener Pilzarten. 26 Mitteilung Ueber pflanzliche Wachstunstoffe . *Hoppe - Seyl. Zeitsch.*, 1937, 249, 93-110.
- 33.-LEFTER (G.).-The influence of fertilizers on *Monilia cinerea* attack. *R. A.M.*, 1963, 43, 2343.
- 34.-LITTLE (J.E.), SPROSTION (T.J.) et FOOTE (M.W.).-Isolation and antifungal action of naturally occurring 2-méthoxy-1,4-naphtoquinone . *Journ. biol. Chem.*, 1948, 174, 335-342.
- 35.-LUCAS (E.H.), LEWIS (R.W.) et SELL (H.M.).- An antibiotic principle derived from seeds of *Brassica oleracea* . *Quart Bull. Mich. Agric. Exp. Sta.*, 1946, 29, 4-6.
- 36.-MOLZ (E.).-Ueber die Bedingung der Entstehung der durch *Sclerotinia fructigena* erzeugten Schwarzfäule der Apfel . *Zbl. Bakt.*, 1907, 17, 175-188.
- 37.-OGAWA (J.M.).-The influence of emanations from fruits of *Prunus* sp. on spores germination of the brown-rot organisms . *Phytopathology*, 1958, 48, 396.
- 38.-OGAWA (J.M.) et ENGLISH (H.).-Means of differenciating isolates of *Sclerotinia laxa* and *Sclerotinia fructicola* . *Abst. Phytopathology*, 1954, 44,
- 39.-OLIVIER (J-M.), AKHAVAN (A.) et BONDOUX (P.).- Note sur l'obtention de milieux synthétiques pour la culture du *Botrytis cinerea* , du *Monilia laxa* et du *Monilia fructigena* . Effet *in vitro* de l'A.I.A. . *Ann. Phytopatho.*, 1972, 1, 2pp. (à l'impression).
- 40.-OLIVIER (J-M.) et BONDOUX (P.).-Infections stigmatiques chez quelques parasites des arbres fruitiers . *C. R. Ac. Agric.*, 1970, 56, 1100-1105.
- 41.-OVTSHINNIKOVA (A.A.).-Summary of the scientific research work of the Institute of plan protection for the year 1936 . Part II. Pests and diseases of industrial and fruit crops . *R. A.M.*, 1937, 17, 441.
- 42.-PALAZON (I.).-Etude préliminaire de la flore fongique des bourgeons du Pêcher et du Prunier . *Rev. Zool. Agric. et Patho. vég.*, 1970, 1.
- 43.-PERSOON (C.H.).-*Observationes Mycologicae* . Lipsiae , 1796, 26.

- 44.-PERSOON (C.H.).-*Synopsis Methodica Fungorum* .Gottingae,1801,63.
- 45.-RENAUD (R.).-Les Monilioses du Prunier . Biologie et méthodes de lutte .
Rev.Zool.Agric.et Appli.,1967,66(n° 4 à 6).
- 46.-RIBALDI (M.).-Influenza della temperatura sullo sviluppo della *Monilia fructigena* Pers. au frutti di mela .*Riv.Ecologia*,1950,1 .
- 47.-RICH (S.) et HORSFALL (J.G.).-Relation of polyphenoloxydases to fungus toxicity .*Proc.nant.Acad.Sc.,U.S.A.*,1954,40,139-145.
- 48.-ROBERTS(J.W.) et DUNEGAN (J.C.).-Blossom blight of the Peach.*Phytopathology* ,1926,16,217-222.
- 49.-ROBERTS(J.W.) et DUNEGAN (J.C.).-Critical remarks on certain species of *Sclerotinia* and *Monilia* associated with diseases of fruits .
Mycologia ,1927,19,195-205.
- 50.-ROSE (D.H.), FISCHER (D.F.) , BROOKS (C.) et BRATLEY (C.O.).-Market diseases of fruits and vegetables : Peaches , Plums , Cherries and other stone fruits.*Mise.Publ.U.S.Dép.Agric.*,1937,228,5-8.
- 51.-SCHONBECK (F.).-Untersuchungen ueber Blüteninfektionen .I.Allgemeinen Untersuchungen zum infektiionsweg Narbe-Griffel .*Phytopatho. Zeitsch.* ,1967,59,158-182.
- 52.-TERUI-HARADA (Y.).-Apothecium production ability of mumified young apple fruit infected by *Monilinia mali* .*R.A.M.*,1966,45,504.
- 53.-TERUI-HARADA (Y.).- Cultural studies on the *Monilia* fungus of apples .
Part.4.Apothecial production on peptone paecharope agar medium.
R.A.M.,1967,46,524.
- 54.-TERUI-HARADA(Y.).-On the brown-rot fungus *Monilia fructicola* of fruit trees in Japan .*R.A.M.*,1967,46,2.
- 55.-VASUDEVA (R.S.).-Studies in physiology of parisitism .XI.-An analysis of the factors underlying specialisation of parasitism with special reference to the fungi *Botrytis allii*.Munn and *Monilia fructigena* Pers. .*Ann.Bota.Lond.*,1930,44,469-493.
- 56.-VIENNOT-BOURGIN (G.).-*Les Champignons parasites des plantes cultivées*.
Ed.Masson , Paris , 1949.
- 57.-VIENNOT-BOURGIN (G.).-Les Maladies cryptogamiques du Pêcher.*C.R.Congrès du Pêcher*,Verona,1965,1-60.
- 58.-VIENNOT-BOURGIN (G.).-Les Monilioses.*In:Les Champignons parasites des arbres fruitiers à pépins* .Ed.M.Ponsot,Paris,1966,123-129.
- 59.-WADE (G.C.).-Investigations on brown-rot of apricots caused by *Sclerotinia fructicola* (Wint.)Rehm..I.-The occurence of latent infection in fruit . *Austr.Journ.Agric.Res.*,1956,7,505-526.

